

**RUPÉRSIO ALVARES CANÇADO**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E MICOTOXICOLÓGICA DE GRÃOS DE  
MILHO (*Zea mays* Linné) E SOJA (*Glycine max.* (Linné) Merrill) PROVENIENTES  
DE CULTIVO CONVENCIONAL DAS SEMENTES NATURAIS E  
GENETICAMENTE MODIFICADAS**

**CURITIBA  
2004**

**RUPÉRSIO ALVARES CANÇADO**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E MICOTOXICOLÓGICA DE GRÃOS DE  
MILHO (*Zea mays* Linné) E SOJA (*Glycine max.* (Linné) Merrill) PROVENIENTES  
DE CULTIVO CONVENCIONAL DAS SEMENTES NATURAIS E  
GENETICAMENTE MODIFICADAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Renato João Sossela de Freitas

**CURITIBA  
2004**

Cançado, Rupércio Alvares

Avaliação microbiológica e micotoxicológica de grãos de milho (*Zea mays* Linné) e soja (*Glycine max* (Linné) Merrill) provenientes de cultivo convencional das sementes naturais e geneticamente modificadas / Rupércio Alvares Cançado. - Curitiba, 2004.

xvii, 148 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Renato João Sossela de Freitas  
Tese (Doutorado) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Inclui Bibliografia

1. Microbiologia. 2. Micotoxicologia. 3. Micotoxinas. 4. Milho.  
5. Soja. 6. Organismos geneticamente modificados. 7. Alimentos geneticamente modificados. I. Título. II. Freitas, Renato João Sossela.  
III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 660.65

“De todos os deuses, Amor é o primeiro!”

Platão

Aos meus pais José (*in memoriam*) e Doraci  
pelo apoio, carinho e compreensão

“Há quem passe pelo bosque e só veja lenha para a fogueira!”  
Tolstoi

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Renato João Sossela de Freitas, pela orientação, confiança, amizade e estímulo para realização deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Arislete Dantas de Aquino, pelo incentivo, determinação, sugestões e transmissão de experiências, além da amizade.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ida Chapaval Pimentel, pelas sugestões, incentivo e comentários alicerçando as definições microbiológicas, além da amizade.

Ao Prof. Dr. Rui Sérgio dos Santos Ferreira da Silva, pelo incentivo, apoio, dinâmica, amizade e sua valiosa colaboração na estatística deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Homero Fonseca, pelo incentivo, sugestões, amizade e comentários críticos inteiramente positivos.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vildes Maria Scussel, pelo incentivo, apoio, amizade e sua valiosa colaboração na confecção deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nery Nishimura de Lima, pelas sugestões e comentários críticos inteiramente positivos, além da amizade.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisa Yoko Hirooka, pela cooperação e sugestões, além da amizade.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sonia Maria Chaves Haracemiv, pelo incentivo, sensibilidade, amizade, apoio, cooperação e abrindo novos horizontes e perspectivas de estudo.

Ao Prof. Me. Sergio Paulo Severo de Souza Diniz, pelo incentivo e colaboração na confecção deste trabalho.

Aos Membros da Banca Examinadora, pelas sugestões e comentários críticos positivos.

Aos Colegas do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos - Doutorado e Funcionários da Universidade Federal do Paraná, pela cooperação.

A Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, pelo incentivo, pela abertura de construção e evolução acadêmica, além da amizade.

Aos amigos Liane, Sonia, Marcelo, Alexandre, Jussara, Altamira, Cinira, Dorival, Conceição, pelo incentivo, degrau alcançado, apoio, experiência de vida, amizade e a valiosa e singular colaboração na confecção deste trabalho.

A Universidade Federal do Paraná – UFPR e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, por ter proporcionado meios para freqüentar o Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos – PPGTA.

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná, laboratórios da Usina-Piloto, pela atenção, auxílio, colaboração e apoio nas análises laboratoriais deste trabalho.

À Secretaria de Abastecimento do Estado do Paraná – SEAB/PR, pela atenção e auxílio junto a comunidade agrícola.

Às Cooperativas Integradas à Secretaria de Abastecimento do Estado do Paraná - SEAB/PR pela colaboração e apoio.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agrícola do Estado do Paraná – EMBRAPA/PR pelo incentivo, apoio e colaboração.

A Pioneer Sementes Ltda, pela colaboração, apoio, incentivo e pelas informações enviadas para a confecção deste trabalho.

A Singenta Seeds Ltda, pela singela colaboração, cooperação, parceria e apoio para confecção deste trabalho.

A Scil do Brasil Ltda, pelas informações e apoio.

A Monsanto Brasil Ltda, pela singular colaboração, cooperação, parceria e apoio para confecção deste trabalho.

A VICAM do Brasil, pela positividade e aprimoramento das informações, colaboração e apoio.

A Bioscan Ltda, pelo auxílio, apoio e colaboração.

A *Micotoxinfo* - Cuba, pelo incentivo, pela generosidade, pelas informações mundiais e pelo carinho e prontidão sempre presentes.

A *Micotoxinfo Latinamerican Association*, pelo apoio, colaboração e parceria.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização e divulgação deste trabalho.



## SUMÁRIO

DEDICATÓRIA I.....	continua iii
DEDICATÓRIA II.....	iv
AGRADECIMENTOS.....	v
SUMÁRIO.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE GRÁFICOS.....	xi
LISTA DE QUADROS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE SIGLAS E DE SÍMBOLOS.....	xiv
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	18
CAPÍTULO 2: REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 MILHO.....	19
2.1.1 Morfologia e Fisiologia do Milho.....	20
2.1.2 Produção Brasileira e Paranaense do Milho.....	24
2.1.3 Milho Geneticamente Modificado.....	26
2.2 SOJA.....	30
2.2.1 Morfologia e Fisiologia da Soja.....	31
2.2.2 Produção Brasileira e Paranaense da Soja.....	35
2.2.3 Soja Geneticamente Modificada.....	37
2.3 CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE MILHO E SOJA.....	39
2.4 CONTAMINAÇÃO MICOTOXICOLÓGICA DE MILHO E SOJA.....	40
CAPÍTULO 3: MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3.1 AMOSTRAGEM.....	51
3.2 MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS.....	51
3.2.1 Análise de Teor de Umidade.....	51
3.2.2 Análise de Teor de Atividade de Água.....	52
3.2.3 Análise de Teor de Cinzas.....	52
3.3 MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS.....	52
3.3.1 Contagem Total de Bactérias Mesófilas (TPC).....	52
3.3.2 Análise de Bolores e Leveduras (Y-MSC).....	53
3.3.3 Análise de Coliformes Fecais/ <i>Escherichia coli</i> (NMPCF/Ec).....	53
3.3.4 Análise de <i>Salmonella</i> (SALL).....	54
3.3.5 Análise de Fungos Toxigênicos (FUNGITox).....	54
3.4 MÉTODOS MICOTOXICOLÓGICOS.....	54
3.4.1 Análise de Aflatoxinas B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> e G <sub>2</sub> ( <i>Aspergillus flavus</i> e <i>Aspergillus parasiticus</i> ).....	55
3.4.2 Análise de Fumonisinias B1, B2, B3 ( <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Fusarium proliferatum</i> (Matsushima) Nuremberg e <i>Fusarium subglutinans</i> ).....	55
3.4.3 Análise de Zearalenona ( <i>Fusarium graminearum</i> ).....	56
3.5 CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL COM <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643, CCT 3125.....	56
3.5.1 Amostragem.....	56
3.5.2 Armazenamento.....	57
3.5.3 Preparação.....	58
3.5.4 Contaminação Artificial das Amostras.....	59
3.5.5 Métodos de Análises.....	60
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	60
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
4.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	61
4.1.1 Análise de Teor de Umidade em Grãos de Milho e Soja.....	61
4.1.2 Análise de Teor de Atividade de Água em Grãos de Milho e Soja.....	65
4.1.3 Análise de Teor de Cinzas em Grãos de Milho e Soja.....	69
4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	72

	conclusão
4.2.1 Contagem Total de Bactérias (TPC) em Grãos de Milho e Soja.....	72
4.2.2 Análise de Bolores e Leveduras (Y-MSC) em Grãos de Milho e Soja.....	75
4.2.3 Análise de Fungos Toxigênicos (FUNGITox) em Grãos de Milho e Soja.....	78
4.2.4 Análise de Coliformes fecais/ <i>Escherichia coli</i> (NMPCF/Ec) em Grãos de Milho e Soja.....	81
4.2.5 Análise de Salmonella (SALL) em Grãos de Milho e Soja.....	81
4.3 ANÁLISES MICOTOXICOLÓGICAS.....	82
4.3.1 Teor de Aflatoxinas em Grãos de Milho e Soja.....	82
4.3.2 Teor de Fumonisinas em Grãos de Milho e Soja.....	85
4.3.3 Teor de Zearalenona em Grãos de Milho e Soja.....	86
4.4 ANÁLISES DA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL COM <i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643, CCT 3125.....	87
4.4.1 Teor de Umidade X Teor de Atividade de Água na Contaminação Artificial de Milho e Soja.....	88
4.4.2 Teor de Fungos Toxigênicos (FUNGITox) na Contaminação Artificial de Milho e Soja.....	90
4.4.3 Teor de Aflatoxinas na Contaminação Artificial no Milho e Soja.....	92
<b>CAPÍTULO 5: CONCLUSÃO.....</b>	95
<b>REFERÊNCIAS DE TRABALHO PUBLICADOS EM FUNÇÃO DA TESE.....</b>	97
<b>GLOSSÁRIO.....</b>	98
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	100
<b>ANEXOS.....</b>	115

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	MAPA DA REGIÃO DA BABILÔNIA E ASSÍRIA.....	1
FIGURA 2 -	DESENHO DE UMA SEMENTE E SUAS PARTES BÁSICAS.....	6
FIGURA 3 -	ESQUEMA DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE SEMENTES.....	7
FIGURA 4 -	COMPONENTES BÁSICOS DO GRÃO DE MILHO.....	22
FIGURA 5 -	FÓRMULA ESTRUTURAL DA AMIOLOSE.....	23
FIGURA 6 -	FÓRMULA ESTRUTURAL DA AMILOPECTINA.....	23
FIGURA 7 -	AÇÃO DA LAGARTA-DO-CARTUCHO ( <i>Spodoptera frugiperda</i> ) ALIMEN- TANDO-SE EM FOLHAS DE MILHO.....	27
FIGURA 8 -	COMPONENTES BÁSICOS DO GRÃO DE SOJA.....	32
FIGURA 9 -	ESTRUTURA MOLECULAR DO FURANO, DA CUMARINA E DAS LACTONAS.....	42
FIGURA 10 -	ESTRUTURA MOLECULAR DAS MICOTOXINAS AFLATOXINAS B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> E G <sub>2</sub> .....	42
FIGURA 11 -	GRAU DE TOXICIDADE DAS AFLATOXINAS.....	43
FIGURA 12 -	ESTRUTURA MOLECULAR DAS MICOTOXINAS FUMONISINAS B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> E B <sub>3</sub> .....	45
FIGURA 13 -	ESTRUTURA MOLECULAR DA MICOTOXINA ZEARALENONA.....	47
FIGURA 14 -	ESQUEMA DA CUBA DE VIDRO CONSTRUÍDA PARA ANÁLISE DE CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	57
FIGURA 15 -	CUBA DE VIDRO CONSTRUÍDA PARA ARMAZENAMENTO DE MILHO E SOJA PARA ANÁLISE DE CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	58
FIGURA 16 -	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	59

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 -	EVOLUÇÃO DO PLANTIO MUNDIAL DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS – PERÍODO DE 1996 A 2003.....	13
GRÁFICO 2 -	PRODUÇÃO BRASILEIRA TOTAL DE CEREAIS.....	25
GRÁFICO 3 -	TEOR DE UMIDADE DE MC E MM.....	63
GRÁFICO 4 -	TEOR DE UMIDADE DE SC E SM.....	63
GRÁFICO 5 -	TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA NO MC E MM.....	67
GRÁFICO 6 -	TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA NA SC E SM.....	67
GRÁFICO 7 -	TEOR DE CINZAS NO MC E MM.....	70
GRÁFICO 8 -	TEOR DE CINZAS NA SC E SM.....	71
GRÁFICO 9 -	ANÁLISE DE TPC NO MC E MM.....	74
GRÁFICO 10 -	ANÁLISE DE TPC NA SC E SM.....	74
GRÁFICO 11 -	ANÁLISE DE Y-MSC NO MC E MM.....	77
GRÁFICO 12 -	ANÁLISE DE Y-MSC NA SC E SM.....	77
GRÁFICO 13 -	ANÁLISE DE FUNGITox NO MC E MM.....	79
GRÁFICO 14 -	ANÁLISE DE FUNGITox NA SC E SM.....	80
GRÁFICO 15 -	TEOR DE AFLATOXINA NO MC E MM.....	83
GRÁFICO 16 -	TEOR DE AFLATOXINA NA SC E SM.....	84
GRÁFICO 17 -	TEOR DE FUMONISINA NO MC E MM.....	86
GRÁFICO 18 -	TEOR DE UMIDADE E DE ATIVIDADE DE ÁGUA ( $A_w$ ) NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DO MC E MM.....	88
GRÁFICO 19 -	TEOR DE UMIDADE E DE ATIVIDADE DE ÁGUA ( $A_w$ ) NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DA SC E SM.....	89
GRÁFICO 20 -	TEOR DE FUNGITox NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE MC E MM.....	91
GRÁFICO 21 -	TEOR DE FUNGITox NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE SC E SM.....	91
GRÁFICO 22 -	TEOR DE AFLATOXINAS NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE MC E MM.....	93
GRÁFICO 23 -	TEOR DE AFLATOXINAS NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE SC E SM.....	93

## LISTA DE QUADROS

QUADRO	1 -	FUNGOS TOXIGÊNICOS ISOLADOS DE VÁRIOS ALIMENTOS.....	16
QUADRO	2 -	PRINCIPAIS EVENTOS DE TRANSFORMAÇÃO DE MILHO Bt DISPO- NÍVEIS NO MERCADO.....	28
QUADRO	3 -	NÍVEIS PERMITIDOS PARA AFLATOXINAS EM ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO.....	49
QUADRO	4 -	NÍVEIS PERMITIDOS PARA AFLATOXINAS EM ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO E ORGANIZAÇÕES ECONÔMICAS.....	49
QUADRO	5 -	NÍVEIS PERMITIDOS PARA AFLATOXINAS EM ALIMENTOS PARA CONSUMO ANIMAL: MATÉRIAS-PRIMAS E RAÇÕES.....	50

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	TEOR DE ÁCIDOS GRAXOS DE ALGUNS ÓLEOS VEGETAIS.....	33
TABELA 2 -	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO GRÃO DE SOJA.....	34
TABELA 3 -	TEOR DE UMIDADE NO MC, MM, SC E SM.....	61
TABELA 4 -	TEOR DE UMIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO NO MC, MM, SC E SM.....	62
TABELA 5 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE AO TEOR DE UMIDADE NO MC E MM.....	64
TABELA 6 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE AO TEOR DE UMIDADE NA SC E SM.....	64
TABELA 7 -	ANÁLISE DE TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA NO MC, MM, SC E SM.....	66
TABELA 8 -	TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA AO LONGO DO TEMPO DE ARMAZE- NAMENTO NO MC, MM, SC E SM.....	66
TABELA 9 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE AO TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA NO MC E MM.....	68
TABELA 10 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE AO TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA NA SC E SM.....	68
TABELA 11 -	TEOR DE CINZAS NO MC, MM, SC E SM.....	70
TABELA 12 -	ANÁLISE DE TPC NO MC, MM, SC E SM.....	72
TABELA 13 -	ANÁLISE DE Y-MSC NO MC, MM, SC E SM.....	76
TABELA 14 -	ANÁLISE DE FUNGIT <sub>ox</sub> NO MC, MM, SC E SM.....	79
TABELA 15 -	TEOR DE AFLATOXINAS NO MC, MM, SC E SM.....	82
TABELA 16 -	TEOR DE FUMONISINAS NO MC E MM.....	85
TABELA 17 -	ANÁLISE DE FUNGIT <sub>ox</sub> NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE MC, MM, SC E SM.....	90
TABELA 18 -	ANÁLISE DE AFLATOXINAS NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE MC, MM, SC E SM.....	92

## LISTA DE SIGLAS E DE SÍMBOLOS

A <sub>w</sub>	-	Atividade de água
AGM	-	Alimento Geneticamente Modificado
ANVISA	-	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA	-	<i>American Public Health Association</i> = Associação Americana de Saúde Pública
BAM	-	Manual de Análises Bacteriológicas do FDA
CCD	-	Cromatografia em Camada Delgada
CEPA	-	Conselho Estadual de Política Agrícola
CLASPAR	-	Empresa Paranaense de Classificação de Produtos
CNPA	-	Conselho Nacional de Política Agrícola
CONAB	-	Companhia Nacional de Abastecimento
DCA	-	Divisão de Conjuntura Agropecuária
DEPLAN	-	Departamento de Planejamento Agrícola
DERAL	-	Departamento de Economia Rural
FAO	-	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> = Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FDA	-	<i>Food and Drugs Administration of United States of America</i> = Agência dos Estados Unidos da América para a Vigilância Sanitária de Alimentos e de Fármacos
FUNGITox	-	Contagem de Fungos Toxigênicos
GM	-	Geneticamente Modificado
GMO	-	<i>Genetically Modified Organism</i> = Organismo Geneticamente Modificado
HPLC	-	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> = Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
ICMSF	-	<i>International Commission on Microbiological Specifications for Foods</i> = Comissão Internacional de Especificação Microbiológica para Alimentos

MAARA	-	Ministério da Agricultura e Abastecimento do Brasil
MC	-	Milho Convencional (Milho Híbrido)
MIP	-	Manejo Integrado de Pragas
MM	-	Milho Geneticamente Modificado
NMPCF/Ec	-	Contagem Total de Coliformes Fecais/ <i>Escherichia coli</i>
OGM	-	Organismo Geneticamente Modificado
OMS	-	Organização Mundial de Saúde
OPS	-	<i>Organización Panamericana de la Salud</i> = Organização Panamericana da Saúde
SALL	-	Contagem Total de <i>Salmonella</i>
sbCTA	-	Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos
SC	-	Soja Convencional
SEAB	-	Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná
SECEX	-	Secretaria de Comércio Exterior
SM	-	Soja Geneticamente Modificada
SPA	-	Secretaria de Política Agrícola
TPC	-	<i>Total Plate Count</i> = Contagem Total de Bactérias
TLC	-	<i>Thin Layer Chromatography</i> = Cromatografia em Camada Delgada
UFC	-	Unidade Formadora de Colônia
USDA	-	<i>United State Department of Agriculture</i> = Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América
UV	-	Ultravioleta
WHO	-	<i>World Health Organization</i> = Organização Mundial de Saúde
Y-MSC	-	<i>Yeast and Molds Count</i> = Contagem de Bolores e Leveduras



## RESUMO

Os cereais e as sementes oleaginosas são para a maioria da população mundial sua única alimentação e freqüentemente são afetados por metabólitos secundários de fungos durante a colheita, o armazenamento e a industrialização. Os métodos biotecnológicos permitem não somente reduzir o tempo de obtenção de variedades com novas características, mas também transmitir propriedades de espécies que são sexualmente incompatíveis, oferecendo um enriquecimento de novas variedades em forma de plantas geneticamente modificadas. O objetivo deste trabalho foi a avaliação microbiológica e micotoxicológica de grão de milho e soja provenientes de cultivo convencional (tradicional) de sementes naturais (híbridas) e geneticamente modificadas. A metodologia utilizada foi a estabelecida pela AOCS, AOAC, ICMSF, FDA e FAT. Para os resultados físico-químicos, o teor de atividade de água apresentou diferença significativa entre os grãos, uma faixa de 0,714 a 0,743 para o milho convencional e para o milho geneticamente modificado entre 0,746 a 0,791; já a soja convencional apresentou uma faixa de 0,633 a 0,719 e a geneticamente modificada entre 0,708 a 0,721. Na microbiologia esta diferença foi apresentada na contagem total de bactérias, fungos e leveduras, além de fungos toxigênicos, estes apresentando uma faixa de contaminação entre  $10^2$  a  $10^3$  ufc/g. Na micotoxilogia apresentaram diferenças significativas os teores de fumonisinas e aflatoxinas: 1,0 a 2600 µg/kg para o milho convencional e entre 1,0 a 1300 µg/kg para o milho geneticamente modificado; a soja convencional obteve 1,0 a 2000 µg/kg e a soja geneticamente modificada entre 1,0 a 1800 µg/kg. Ainda foi realizada uma contaminação artificial com *Aspergillus flavus* nos grãos de milho e soja para verificação da incidência das aflatoxinas no tempo de 0 a 40 dias, obtendo diferenças significativas no nível de 5% ( $P < 0,05$ ). A incidência microbiológica tanto para o milho como para a soja obteve uma menor contaminação fúngica nas sementes geneticamente modificadas, chegando aos valores de 65,4% para o milho e de 17,3% para a soja. A contaminação micotoxicológica (aflatoxinas) no milho obteve menor contaminação para a semente geneticamente modificada, em torno de 75% e na soja houve também menor contaminação para a semente geneticamente modificada, em torno de 9%. A partir dos resultados apresentados, o que se almeja no futuro é uma alimentação direcionada e segura, além de uma produtividade maior com menor custo, seja com semente convencional ou com semente geneticamente modificada.

Palavras-chave: microbiologia, micotoxilogia, micotoxinas, milho, ogm, soja.

## ABSTRACT

MICROBIOLOGICAL AND MYCOTOXICOLOGICAL EVALUATION OF GRAINS OF CORN (*Zea mays* Linné) AND SOY (*Glycine max.* (Linné) Merrill) COMING OF CONVENTIONAL CULTIVATION OF THE NATURAL SEEDS AND GENETICALLY MODIFIED. The cereals and the oleaginous seeds are a lot of times the only feeding and these frequently are affected for secondary metabolites of fungi during the crop, the storage and the industrialization. The biotechnical methods allow not only to reduce the time of obtaining varieties with new characteristics, but also to transmit properties of species that are sexually incompatible, offering an enrichment of new varieties of plants genetically modified. The objective of this work went to evaluation microbiology and mycotoxicology of corn grain and soy obtained of conventional cultivation (traditional) of natural seeds (hybrid) and genetically modified. The methodology went established for AOCS, AOAC, ICMSF and FDA. For physical-chemistry results, the activity of water content presented significant difference among the grains, from 0.714 to 0.743 for the conventional corn and for the genetically modified corn among 0.746 to 0.791; the conventional soy already presented from 0.633 to 0.719 and the genetically modified among 0.708 to 0.721. In the microbiology this difference was presented in the total plate count, yeasts and molds, besides toxigenic fungi, this last one presented contamination among  $10^2$  to  $10^3$  ufc/g. In the mycotoxicology they presented significant differences the fumonisins and aflatoxins: 1.0 to 2600  $\mu\text{g/kg}$  for the conventional corn and 1.0 to 1300  $\mu\text{g/kg}$  for the genetically modified corn; the conventional soy obtained 1.0 to 2000  $\mu\text{g/kg}$  and the genetically modified soy among 1.0 to 1800  $\mu\text{g/kg}$ . An artificial contamination accomplished with *Aspergillus flavus* in the corn and soy to analyze the incidence of the aflatoxins of 0 to 40 days, obtaining significant differences in the level of 5% ( $P < 0.05$ ). The microbiology so much the corn as the soy obtained a smaller contamination of fungi in the genetically modified seeds, arriving to the values of 65.4% for the corn and 17.3% for the soy. The mycotoxicology (aflatoxins) also obtained smaller values for the genetically modified seeds, around 75% for the corn and 9% for the soy. From the presented results, what is longed for in the future is a quality feed and safe, besides a larger productivity with smaller cost, be with conventional seed or genetically modified.

Keywords: microbiology, mycotoxicology, mycotoxins, corn, gmo, soy.

## CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

Por volta do ano 2000 a.C, floresceu, no Oriente Médio, a civilização dos assírios e babilônios. Englobava toda a sabedoria de seu tempo a Babilônia, nativa Sumária e Acádia. Estendia-se, ao sul, entre o Tigre e o Eufrates, descendo até o Golfo Pérsico (Figura 1). Os babilônios, ramo aramaico da raça semítica, possuíam culto pagão (ORNELLAS, 2000; FLANDRIN e MONTANARI, 2002).

FIGURA 1 – MAPA DA REGIÃO DA BABILÔNIA E ASSÍRIA



FONTE: ANGELFIRE, 2004.

Os babilônios empregavam açafrão para fabricar essências aromáticas. Usavam como adoçante mel selvagem, seiva de bordo e de bétula. Ao que parece, não utilizavam a oliveira, mas conheciam o óleo de sésamo. Nos rituais, usavam óleo em lugar de manteiga. O Código de Hamurabi (reliquia histórica que se pode apreciar no Museu do Louvre e onde figuram não só fórmulas usadas pelos sacerdotes médicos, mas também noções sobre o regime alimentar, ao qual davam grande importância) se refere a um pão que se comia e outro que se bebia, ambos

preparados por fermentação do extrato da cevada. Segundo historiadores, os babilônios coziam o pão, deixavam-no secar, amoleciam-no na água, deixavam a massa fermentar e, a bebida resultante, que sabiam preparar em 16 maneiras diferentes, denominava-se de *kwass*, que é justamente a atual cerveja. Entre os cereais, conheciam também o painço (milho miúdo) (ORNELLAS, 2000; FLADRIN e MONTANARI, 2002).

Os babilônios foram os primeiros povos a se ocupar e dar importância à agricultura, eles plantavam trigo, cevada e painço, além da pesca (carpa e enguia) e também armazenavam o leite materno, pela sua importância nutritiva. Já os assírios incorporaram à sua mesa farta, alimentos que outros povos comiam e produziam: carnes, pescado (carpa, enguia), frutas variadas, leguminosas e diferentes tipos de vegetais. A única produção dos assírios era o vinho de palmeiras (ORNELLAS, 2000).

Por volta de 1290 a.C., o povo judeu começou a se espalhar por toda a face da Terra, iniciando os preceitos alimentares que estão contidos no *Torah* (significa guia e direção e é considerado pelos judeus ortodoxos como autoridade máxima em matéria de conduta) e refere-se a interdições, em princípio válidas, principalmente como medidas higiênicas aplicáveis à época em que foram dadas. As interdições foram classificadas em três grupos (ORNELLAS, 2000; FLADRIN e MONTANARI, 2002):

- a) Os que são hereditariamente *kosher* (próprios) e podem ser comidos no estado natural: grãos, frutas, vegetais, chás (infusões);
- b) Os que requerem certo tratamento para se tornarem *kosher*, ruminantes de pés fendidos, certas aves e insetos;
- c) Os que são originalmente não *kosher*, produtos de porco, mariscos e peixes sem escamas ou barbatanas.

Os hábitos e preceitos judaicos, levados a todas as partes do mundo, influíram na formação de preconceitos alimentares, enquanto eles próprios recolhiam usos e formas de comer alimentos, na convivência com outros povos.

A importância dos cereais e derivados, dos grãos aos produtos elaborados aparecem a partir desta época com mais de 50 citações nas páginas da Bíblia.

Chegando nas Dinastias Chinesas, Confúcio (551-479 a.C.), passando pela Dinastia *Han* (202 a.C-220 d.C); Dinastia *Tsin* (265-313 d.C) iniciando os contatos com os povos romanos, povos indianos e com os povos dos Países Árabes; Dinastia *Song* (960-1100 d.C) acolhendo Marco Pólo e características alimentares romanas; Dinastia *Ming* e *Tsing* (1644-1912 d.C.) começam a concentrar as energias na preocupação de extrair da terra o alimento (ORNELLAS, 2000).

Os chineses são cuidadosos cultivadores da terra, foram os primeiros a dividi-la em pequenas áreas de hortas ou jardins, onde puderam obter mais de uma safra por ano. Com a importância e os cuidados na agricultura chinesa, cientistas e historiadores referem-se à descoberta das ervilhas e da cultura da soja, incluída em livros de medicina como remédio para o coração, fígado, rim, estômago e intestino. Os chineses fazem da soja uma infinidade de preparações culinárias, quer do grão simples ou brotado, quer do broto, rico em vitamina C (ORNELLAS, 2000; FLANDRIN e MONTANARI, 2002).

Com a descoberta da América em 1492 surgiram novas fontes de alimentos, muito deles recebidos com sucesso: o peru da América do Norte; a baunilha e o cacau do México; o milho de pipoca, o tomate e as batatas do Peru, além de outras espécies de milho, feijão e amendoim da América do Sul e Central, as quais foram enriquecer a dieta monótona do Velho Mundo. O milho, quando introduzido na Europa, foi utilizado pelas camadas sociais de baixo poder econômico e poucas exigências culinárias. Surgiram preparações econômicas na Romênia, na Bucóvia, no Cáucaso, semelhantes às que existiam no México, secando no forno tortas amarelas, chatas e rústicas – *tortillas*. O milho e a batata foram, certamente, a contribuição mais significativa para beneficiar as populações menos favorecidas em recursos alimentares. O cacau, a baunilha e o tomate ascenderam às esferas de maior sofisticação culinária, comparecendo à mesa do rico. Francis Bacon foi um entusiasta da relação entre alimento e longevidade, afirmando: “Certamente isto é fora de qualquer dúvida, que a dieta, bem orientada, encerra a maior contribuição para o prolongamento da vida”; fala a qual se referia aos cereais como o milho, o trigo, a soja, frutas e legumes (ORNELLAS, 2000).

Um arqueólogo chinês, Dr. Ricardo Latchan, afirma que o milho já existia na América do Sul dois mil anos antes da chegada dos europeus. Era regularmente cultivado e consumido por astecas e incas e também fazia parte de seus rituais, tendo sido encontrados vestígios de milho em antigos túmulos daqueles povos. Segundo Garcilaso de La Veja, corroborando outros historiadores antigos, que os índios do Peru e México festejavam, anualmente, o seu deus do sol “Pachaamas” (deus tutelar do milho). Querendo evidenciar sua origem como cereal dos Maias (“*Mayas*”), o grande Linneo lhe deu o nome de “*mays*”. O milho era representado por eles em monumentos e esculturas como símbolo de prosperidade (FLANDRIN e MONTANARI, 2002).

Sendo o milho uma planta rústica ou pouco exigente de clima e cuidados culturais, espalhou-se por todas as terras quentes e temperadas do mundo, constituindo o cereal de maior consumo, servindo diretamente à alimentação do homem e, indiretamente, quando usado no engorde de gado e criação de aves domésticas, porcos entre outros. A partir da “*Zea-Mays*”, de Linné, surgiram várias espécies de milho que se distinguem, também, por diferença de cores: branco, amarelo, vermelho, roxo e até preto (ORNELLAS, 2000).

Já no Brasil, o milho, apesar de conhecido pelo indígena, não era seu alimento fundamental. As condições climáticas favoráveis ao cultivo e uso habitual de cereais na alimentação do europeu incentivaram sua produção. O fator econômico relativo à rentabilidade na produção e facilidade na aceitação, principalmente pela população negra, deve ter sido fator decisivo para sua incorporação à alimentação (ORNELLAS, 2000; FLANDRIN e MONTANARI, 2002).

Nos países desenvolvidos do mundo ocidental são muitas as pessoas que nunca conheceram a falta de alimento e quando estas são indagadas sobre o significado de alimento, muito não sabem definir o verdadeiro sentido desta palavra; logo, alimento é toda substância que, introduzida no organismo, serve para nutrição dos tecidos e para produção de calor; sendo assim, é um substrato que contém substâncias nutritivas necessárias à vida (nutrição para as forças vitais do organismo) (ALIMENTO, 2000).

A alimentação da população mundial é bastante rica em carboidratos e estes são provenientes dos cereais ingeridos na forma “*in natura*” ou mesmo de produtos industrializados.

A palavra cereal possui como origem o latim, *cereale*, que significa a relação às sementes farináceas de gramíneas, apropriadas para alimento do homem e de animais domésticos, ou ainda, comumente usada como o nome genérico das gramíneas cujos grãos servem para alimento do homem e dos animais domésticos (arroz, aveia, café, centeio, cevada, feijão, milho, soja, trigo entre outros) (CEREAL, 2000).

Assim, com a segunda definição pode-se considerar o milho e a soja como cereal e não diferenciar a soja como leguminosa; logo, o milho e a soja são considerados neste trabalho como cereal.

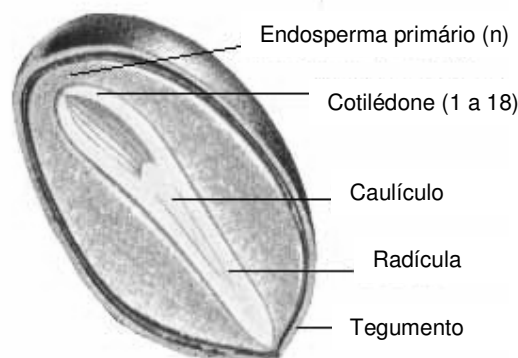
A produção de sementes destes cereais deve envolver várias etapas como sistemas de qualidade, a análise físico-química, microbiológica, sanitária, nutricional e genética, em sua propriedade funcional e para o devido fim, destinado na alimentação seja ela para o homem ou para o animal (MACHADO, 2000).

O melhoramento de plantas e novas variedades desenvolvidas no Brasil durante as últimas décadas contribuíram para o crescimento da agricultura nacional (BORÉM, 1999).

Estrutura de propagação das plantas superiores origina-se do óvulo fecundado. Presente em Gimnospermas e Angiospermas, a semente é a unidade reprodutiva que dá início a uma nova geração. Contém o novo esporófito sob forma de embrião e protege-o contra a dessecação, danos mecânicos e ataques de organismos diversos (microrganismos, insetos etc.). Assim, seu surgimento de importância vital para o sucesso evolutivo das plantas terrestres. Dependem das características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas da semente, o tempo e o local de estabelecimento do novo indivíduo, além do vigor da plântula (BIOMANIA, 2002).

A formação da semente acontece após a fecundação dentro do óvulo, onde o zigoto sofre divisões sucessivas, dando origem ao embrião e cotilédones. Enquanto isto, as duas camadas de células externas do óvulo, a primina e a secundina, originam a casca ou tegumento da semente (Figura 2).

FIGURA 2 – DESENHO DE UMA SEMENTE E SUAS PARTES BÁSICAS



FONTE: BIOMANIA, 2002.

A semente é um dos insumos agrícolas mais importantes e constitui-se no primeiro fator do sucesso ou fracasso da produção, pois ela contém todas as potencialidades produtivas da planta e é através dela que os aperfeiçoamentos introduzidos pelo melhoramento genético da espécie são levados até o agricultor. A produção pode ser inferior à capacidade genética da semente, mas nunca superior, pois nenhuma prática ou técnica cultural pode aumentar a produtividade além dos limites impostos pela semente; porém a melhoria do nível tecnológico, com a utilização de práticas e insumos agrícolas recomendados para a cultura, destina-se a permitir a complexa expressão do potencial genético e fisiológico da semente (BORÉM, 1999).

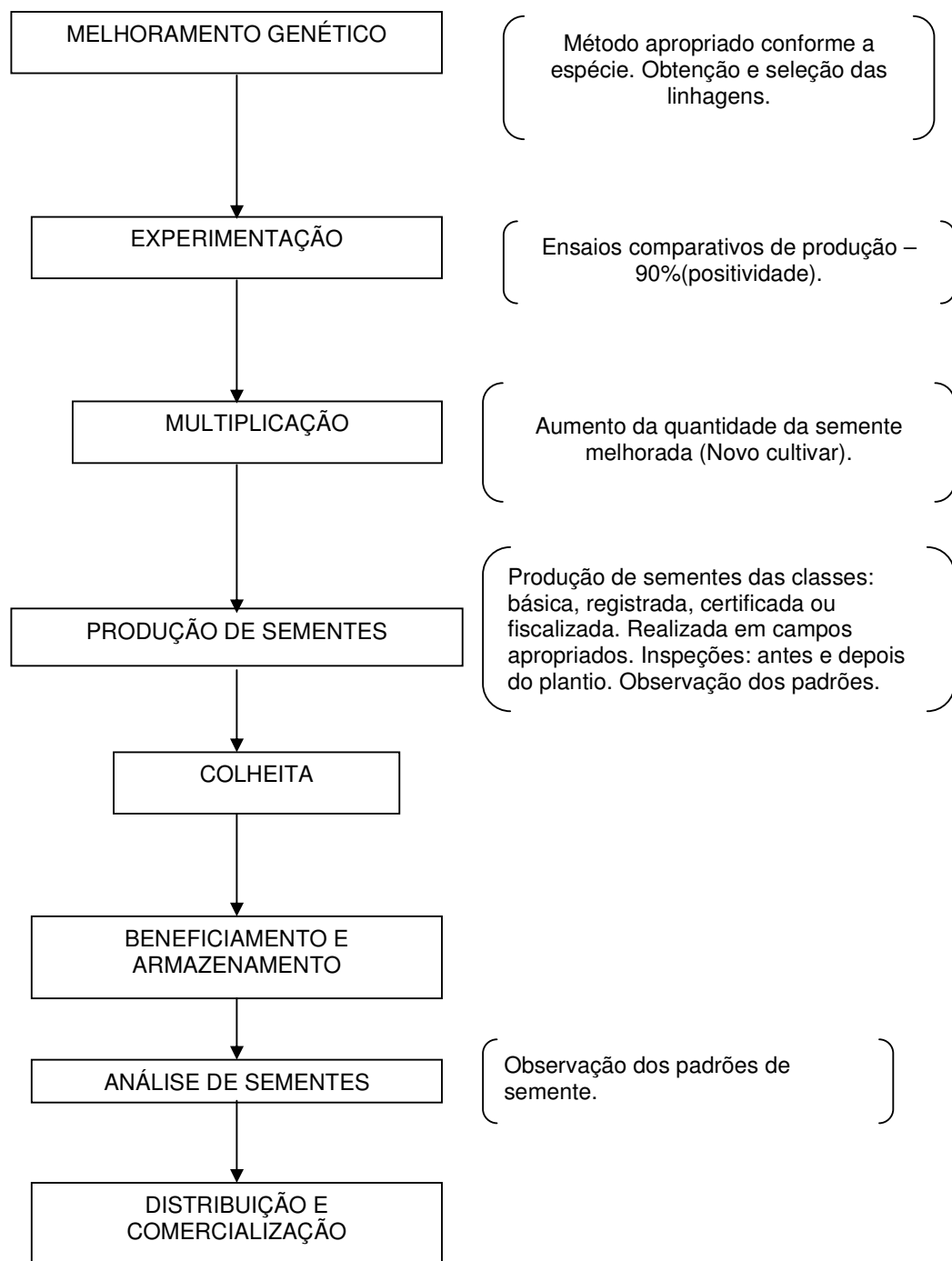
O melhoramento genético de plantas constitui um instrumento básico para a criação de novos e mais produtivos cultivares, com características agronômicas, morfológicas e nutricionais superiores às aquelas tradicionalmente utilizadas pelos agricultores. A Figura 3 apresenta o esquema do processo de produção de sementes, como insumo, obtidas via melhoramento genético (REIS; BORÉM; DEL GIÚDICE, 1999).

Nos ensaios comparativos de produção de novas sementes exigem-se no mínimo de 90% de melhoramento genético em seus resultados, para que possa ter uma produção aceitável de sementes e com possível ganho econômico.

Com isso proporcionará uma multiplicação eficiente das sementes geradas como novo cultivar, já que terão novas características além daquelas recebidas de seus pais de origem.



FIGURA 3 – ESQUEMA DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE SEMENTES.



FONTE: REIS; BORÉM; DEL GIÚDICE, 1999.

Desde o início da agricultura, ou seja, desde que os seres humanos abandonaram a vida nômade e resolveram viver em aldeias e cidades, os objetivos dos agricultores são (GANDER e MARCELLINO, 1997):

1. Aumentar a produtividade de determinadas culturas pela seleção de variedades que apresentem:
  - resistência a doenças e pragas;
  - resistência a encharcamentos e à seca;
  - menor uso de fertilizantes;
  - tolerância a condições ambientais hostis, como solos ácidos e/ou salgados.
2. Aumentar o valor de culturas de interesse socioeconômico, selecionando características como:
  - maior conteúdo de óleo;
  - maior valor nutritivo;
  - maior facilidade de colheita e armazenagem;
  - menor uso de produtos químicos.

Até poucos anos atrás, a única maneira de alcançar estes objetivos era através dos métodos clássicos de cruzamento, ou seja, da genética mendeliana. No entanto, estas estratégias levaram o rendimento das culturas a uma situação estacionária, que não foi solucionada pelos métodos convencionais. Além disso, estes métodos não permitem ultrapassar as barreiras naturais de cruzamentos, e até que uma variedade com características novas possa ser lançada no mercado, 5 a 15 anos se passam. Outra desvantagem do melhoramento clássico é o fato de que, além das qualidades desejadas, qualidades indesejáveis podem ser transferidas (GANDER e MARCELLINO, 1997).

Os métodos da biotecnologia permitem não somente reduzir o tempo da obtenção de novas variedades com características diversas, mas também transferir propriedades de espécies que, normalmente, são sexualmente incompatíveis. Em outras palavras, as barreiras naturais entre as espécies podem ser alteradas, o que oferece um aumento variedades em forma de plantas geneticamente modificadas (ARAGÃO, 2003).

Os termos utilizados de OGM e o comumente transgênico diferem em suas definições.

Pela legislação brasileira, a Lei Nº 8.974, de 05.01.1995, a definição para organismo geneticamente modificado (OGM) é o organismo cujo material genético (DNA/RNA) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética ou afim. Este organismo é chamado de gene. Os alimentos geneticamente modificados contêm genes naturais e um adicional proveniente de um outro organismo que pode ser de uma planta, de uma bactéria ou de um animal (IBGE, 2004).

Porém a legislação não distingue se é um organismo geneticamente modificado ou se é um organismo transgênico, no qual como cientista e pesquisador sabe-se que há diferenças etimológicas nas definições das palavras.

Organismo transgênico, microrganismo, planta ou animal, é um ser em cujo genoma foi inserido um gene de outro organismo. O gene inserido contém a informação para determinada característica que é então transferida de um organismo para outro. Isso ocorre porque o código genético, decifrado nos anos 60, é universal, e a informação genética pode ser compartilhada entre indivíduos (ARAGÃO, 2003).

Plantas transgênicas são plantas que contêm um ou mais genes introduzidos por meio de técnicas de transformação genética. O organismo transgênico apresenta modificações impossíveis de serem obtidas com técnicas de cruzamentos tradicionais. São também chamados de organismos geneticamente modificados – OGM (GUERRA; SOUZA, 2002).

Após diversas leituras de autores sobre os OGM e os transgênicos, a definição mais precisa e apropriada é a que define simplesmente como: o organismo geneticamente modificado é todo aquele organismo que contém inserido um gene da mesma espécie e o organismo transgênico é todo aquele organismo que contém inserido um gene de espécie diferente.

Vale ressaltar que um gene é um segmento de um mesmo tipo de molécula, como o ácido desoxirribonucleico (DNA); é esta característica que permite que os genes de um organismo sejam potencialmente funcionais em outro; resultando geralmente em alimento com maior valor nutricional, com maior resistência a pragas e insetos, além da diminuição de propriedades tóxicas ao ser humano.

O Brasil dispõe da Lei de Biossegurança (Lei nº 8.974/95). Esta Lei e seu decreto de regulamentação (nº 1.752/95) explicitam a política nacional de biossegurança, acompanhamento do desenvolvimento técnico-científico na

biossegurança, bem como o estabelecimento de normas e regulamentos relativos às atividades que contemplem construção, cultivo, manipulação, transporte, comercialização, consumo, liberação e descarte de organismos geneticamente modificados (GUERRA; SOUZA, 2002; COSTA; BORÉM, 2003; CTNBio, 2004).

Em 1994, foi comercializada mundialmente a primeira amostra de tomate transgênico obtido pela Calgene, onde em 1992 havia sido desregulamentado nos EUA (ZANCAN, 2000).

Estudos avançaram nas diversas culturas agrícolas, principalmente as de maior consumo humano bem como animal, tais como: milho, soja, arroz, trigo, feijão, amendoim e mesmo naqueles que possuem um alto grau de consumo interno nacional como na exportação, como: café e castanha-do-Brasil.

Os meios de obtenção de OGM ou de um transgênico são diversos hoje em dia, tem-se como exemplo: a enxertia, formação *in vitro*; eletroporação e a biobalística que é a mais utilizada devido a sua precisão e menor agressão à molécula modificada.

As técnicas mais comuns na detecção de um organismo se ele é ou não OGM são: kits de imunoenaios conhecidos como ELISA, reação em cadeia da DNA polimerase conhecido como PCR e detecção por tiras de papel, fornecendo resultados positivos ou negativos (LEWONTIN, 2002; COSTA; BORÉM, 2003; PASSARGE, 2004).

Na técnica de ELISA, tem início com a adição do extrato do alimento transgênico a uma placa de poliestireno e suas proteínas são adsorvidas (imobilizadas) na placa. Em seguida, uma solução contendo anticorpo específico para a proteína de interesse (anticorpo 1) é adicionada à placa. Este anticorpo se liga de modo específico à proteína. Finalmente, é adicionada a placa um segundo anticorpo (anticorpo 2) que reconhece especificamente o anticorpo 1. Ao anticorpo 2 está conjugada uma substância fluorescente, ou outra capaz de permitir a sua detecção visual ou por aparelhagem específica. Dessa maneira, se o extrato contiver a proteína de interesse, o anticorpo 1 se ligará a ela; a este se ligará o anticorpo 2 e conseqüentemente haverá uma maneira visual de determinar a presença da proteína e confirmar a transgenicidade. A metodologia é bastante simples, direta e reprodutível, podendo processar dezenas (ou mesmo centenas) de amostras ao

mesmo tempo. É considerado um método preciso e tem sido utilizado por diversos laboratórios na identificação de alimentos transgênicos.

A identificação de alimentos transgênicos pela técnica de PCR detecta diretamente o DNA, ou seja, sequência de DNA específica do transgene, de parte dele, da região promotora, da região terminadora ou do gene marcador. Esse método tem sido o mais aceito pelos países importadores para a análise de alimentos transgênicos. É um método preciso, direto, extremamente sensível e está sendo utilizado em procedimentos que exigem altíssima precisão, tais como os testes de paternidade em humanos. O método se baseia na amplificação de um fragmento de DNA específico contido no transgene ou em algum segmento de DNA exógeno a ele associado. A amplificação é feita pela reação em cadeia da DNA polimerase utilizando pequenos fragmentos específicos de DNA que flanqueiam a região do DNA a ser amplificada. Na amplificação do DNA utiliza-se um ciclo de variação de temperaturas e é repetido entre 30 e 40 vezes, de tal forma que a quantidade de DNA amplificado aumenta exponencialmente a cada ciclo. Dada a complementaridade entre os fragmentos e as regiões flanqueadoras do DNA alvo, a reação é bastante específica e essa especificidade garante a amplificação apenas do segmento desejado. As características marcantes do método de detecção de transgenes baseado na reação de PCR são a sua precisão e a sua sensibilidade. Essas características são altamente desejáveis nesse tipo de análise. Atualmente, os grandes compradores de soja requerem laudos atestando a identidade dos grãos e derivados (transgênicos ou não-transgênicos).

A técnica de detecção em tira de papel tem sido empregada como um método qualitativo para detectar transgenes em grãos e folhas. É um processo simples, também baseado na interação proteína-anticorpo. A tira normalmente é feita de celulose. Na sua extremidade superior é embebido o anticorpo de captura, e no terço inferior da tira é embebido o anticorpo de detecção, ligado a uma substância capaz de promover o aparecimento de cor. O anticorpo de detecção é específico para a proteína de interesse. Na prática, inicialmente, a extremidade inferior da placa é imersa em um tubo contendo o extrato do material a ser analisado. Se a proteína de interesse estiver presente na amostra, ela migrará para a parte superior da tira, arrastada pela solução. O anticorpo de detecção também irá migrar. Na medida em que a proteína migra, a ela se ligam moléculas do anticorpo de detecção. O

complexo proteína-anticorpo vai se tornando cada vez maior até não conseguir mais migrar e “focaliza” em uma faixa única. As moléculas do anticorpo de detecção, que não se ligam à proteína e continuam migrando para a porção superior da tira, são capturadas pelo anticorpo de captura, formando uma segunda faixa. Uma vez que o anticorpo de detecção está ligado a uma substância que promove o aparecimento de cor, ele se torna visível nas duas faixas onde a sua concentração localizada é elevada. A presença de duas faixas indica resultado positivo. A presença de apenas uma faixa (a superior) indica que o teste foi negativo.

As vantagens e desvantagens dos OGM estão inseridas em quatro grandes grupos que neste trabalho são chamados de APSM – agricultura, produção de alimentos, setor têxtil e medicina.

Na área da agricultura as vantagens são; o menor uso de agrotóxicos, a diminuição das operações com máquinas na lavoura; a menor exposição do agricultor; as menores perdas durante a colheita e armazenamento; a maior produtividade e a maior rentabilidade.

Na área da produção de alimentos são produzidos alimentos mais nutritivos e saudáveis para alimentação humana e animal; alimentos usados com fins terapêuticos para combater carências em vitaminas e minerais, assim como outras doenças; produtos com melhor sabor/aroma; maior rendimento e vida útil do alimento.

No setor têxtil as vantagens estão diretamente ligadas ao algodão com fibras de melhor qualidade e que dispensam o uso de corantes, reduzindo a contaminação do meio ambiente.

Na área médica as vantagens encontram-se por conta da produção de hormônios essenciais à vida humana; vacinas e produção de anticorpos.

Mediante a sigla APSM é que se pode fazer um comparativo e trocando o significado para alimento produzido sob medida; é o que procura todo pesquisador em seus estudos.

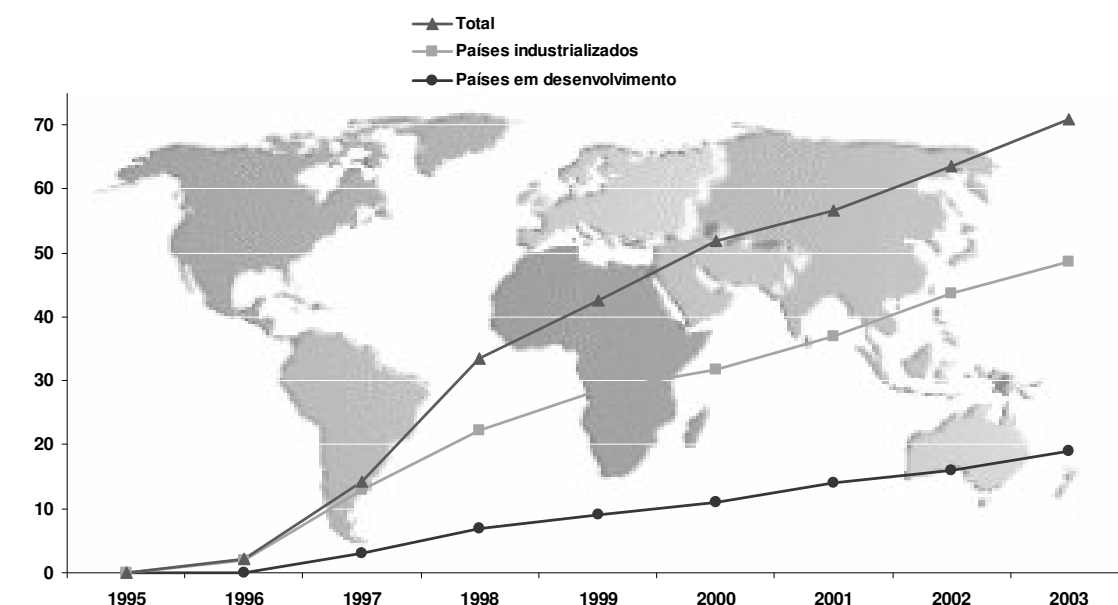
Em referência a desvantagem do OGM ou AGM ou mesmo transgênico relaciona-se ao fato de inserir um gene em um organismo, onde não se sabe qual será o seu destino e o que pode de fato acontecer (WHO, 2004; FAO, 2004).

Este é contra argumentado facilmente porque as ONG – Organizações Não-Governamentais não apresentam dados com referências científicas sobre o mesmo

e sabe-se que já passaram sete anos que vêm sendo consumidos sem ter havido inconvenientes. Em 2004, cerca de 22 cientistas ganhadores do prêmio Nobel assinaram um termo de apoio aos OGM e transgênicos, no qual avaliam e propõem os seus favorecimentos ao plantio desses produtos (FAO, 2004).

O ISAAA – Serviço Internacional para Aquisição de Aplicações em Agrobiotecnologia, em 2004, publica a evolução do plantio mundial de organismos geneticamente modificados no período de 1996 a 2003, conforme Gráfico 1 (JAMES, 2004).

GRÁFICO 1 – EVOLUÇÃO DO PLANTIO MUNDIAL DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS – PERÍODO DE 1996 A 2003



FONTE: JAMES, 2004 (adaptado pelo autor).  
NOTA: Unidade= milhões de hectares.

Entre 2002 e 2003 ocorreu um crescimento de 15% no plantio de OGM, cerca de nove milhões de hectares ou 22,2 milhões de acres a mais (JAMES, 2004).

Em 2003, os seis principais países (quatro em 2002) tiveram crescimento de 99% em sua área global de plantações de OGM; isso reflete cada vez mais a participação dos países líderes em plantações geneticamente modificadas, com dez países crescendo aproximadamente 50 mil hectares (JAMES, 2004).

Dois países, Brasil e Filipinas, aprovaram cultivo de plantas geneticamente modificadas pela primeira vez em 2003. O Brasil aprovou oficialmente a soja tolerante a herbicida em setembro de 2003, imediatamente antes de começar a

safrá. Esta aprovação de última hora dificultou para uma previsão inicial da área de soja plantada no Brasil, na safra de 2003/2004. Até o momento desta publicação, a estimativa de três milhões de hectares de soja GM tinha sido projetada para o Brasil em 2003, mas consta que a área final plantada de soja GM no Brasil em 2003 pode ter sido significativamente maior.

Nas Filipinas, o crescimento foi de aproximadamente 20 mil hectares em milho Bt (híbridos de milho contendo genes codificadores de entomotoxinas de Bt (*Bacillus thuringiensis*) para uso em manejo integrado de pragas) pela primeira vez em 2003. Brasil e Filipinas juntaram-se aos 16 países que já haviam tido crescimento em suas plantações geneticamente modificadas em 2002 e em 2003 totalizando 18 países; nota-se que 11 desses são países em desenvolvimento e sete industrializados.

Assim, o número de países cujas plantações OGM estão em crescimento aumentou de seis em 1996, para nove em 1998, para 13 em 2001 e 18 em 2003 (JAMES, 2004).

Os fungos são importantes na cadeia alimentar porque decompõem vegetais, e por isso reciclam elementos vitais. Por meio do uso de enzimas extracelulares como celulasas e pectinases, os fungos são os primeiros decompositores de partes duras das plantas, as quais não podem ser digeridas pelos animais. Quase todas as plantas dependem de simbiose com fungos, conhecidos como micorrizas, os quais ajudam as plantas a absorverem minerais e água do solo (GUERRERO; SILVEIRA, 2003; STROHL *et al.*, 2004).

Alguns fungos são capazes de crescer, produzir e liberar toxinas em produtos agrícolas, no campo, no armazenamento, durante o transporte, na fase de industrialização e em qualquer momento do consumo. Dentre estes, apenas um certo número tem a capacidade de produzir micotoxinas que causam intoxicações (micotoxicoses) em animais e na espécie humana (MALLOZZI; CORRÊA, 1998).

O termo micotoxinas deriva da palavra grega *Mýkes*, que significa fungo e da palavra grega *Toxikós* (ou da palavra latina *Toxicum*), que significa veneno, ou seja, micotoxina é a toxina produzida por fungos (SCUSSEL, 1998; MICO, 2000; TOXINA, 2000).

Micotoxina é o termo usado para descrever substâncias tóxicas formadas durante o crescimento de fungos, o que está associado a mudanças na natureza



física do alimento no sabor, odor e aparência. Fungos principalmente do gênero *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* estão largamente distribuídos na natureza e, portanto, muitas vezes, contaminam alimentos frescos e também alimentos processados.

Micotoxinas abrangem uma diversificada série de compostos, originários de diferentes precursores e vias metabólicas, reunidas segundo o grau e tipos de toxicidade ao homem e aos animais superiores.

O envenenamento por micotoxinas é chamado de micotoxicose. Os órgãos mais afetados são o fígado, os rins, o cérebro, os músculos e o sistema nervoso. Os sintomas vão desde náuseas e vômitos até a falta de coordenação dos movimentos (ou ataxia) e morte (DINIZ, 2002).

Existem aproximadamente 300 micotoxinas que já foram isoladas, porém as toxinas mais conhecidas encontradas em alimentos e que comprovadamente possuem propriedades tóxicas acentuadas e que podem causar algum dano aos consumidores são: toxinas de Ergot, aflatoxinas, esterigmatocistina, ocratoxinas, zearalenona, tricotecenos, fumonisinas, patulina, citrinina, rubratoxinas, esporodesminas, ácido ciclopiazônico e micotoxinas tremorgênicas.

No II Congresso Internacional de Micotoxinas (II ICM) realizado na Tailândia em 1987, foi elaborado um documento com as principais toxinas que deveriam ser estudadas: aflatoxinas, toxinas de Ergot, ocratoxinas, zearalenona, tricotecenos, patulina e citrinina. Já no *Workshop on Mycotoxins and Ficotoxins* (WMF) realizado na Itália em 1996, foram citadas cinco toxinas principais: aflatoxinas, ocratoxinas, toxina T-2, deoxinivalenol (DON ou vomitoxina) e fumonisinas (SCUSSEL, 1998).

Os cereais e as sementes oleaginosas são freqüentemente prejudicados por estes metabólitos secundários de fungos, durante a colheita, armazenamento e industrialização.

Os produtos que geralmente podem veicular micotoxinas para o homem ou animais são os seguintes (SCUSSEL, 1998; DINIZ, 2002):

- Produtos agrícolas: cereais, sementes, oleaginosas, frutos, vegetais;
- Rações industrializadas;
- Produtos de origem animal: leite e derivados, carnes, embutidos;
- Queijos curados por fungos;
- Alimentos orientais fermentados;

- Produtos obtidos por fermentação: cerveja, aditivos alimentares e vitaminas.

A contaminação de alimentos por fungos pode ocasionar, além de problemas de saúde, perdas econômicas irreparáveis as quais compreendem:

- Perdas diretas de produtos agrícolas;
- Perda de animais por morte;
- Doenças humanas e diminuição da produtividade de animais;
- Custos indiretos dos sistemas de controle de algumas micotoxinas;
- Custos de desintoxicação, para poder tornar o produto aceitável;
- Rejeição do produto pelo mercado importador.

A contaminação específica por fungos em grãos, além das micotoxinas, existe outros danos causados pela ação dos mesmos, tais como:

- Redução do potencial de germinação;
- Descoloração;
- Geração de focos de aquecimento das trocas químicas;
- Redução da quantidade de matéria seca.

O Quadro 1 apresenta os fungos potencialmente tóxicos isolados de vários alimentos e produtos agrícolas e as micotoxinas produzidas pelos mesmos.

QUADRO 1 – FUNGOS TOXIGÊNICOS ISOLADOS DE VÁRIOS ALIMENTOS

continua

Tipos de alimentos	Gêneros / espécie toxigênicos		Micotoxina
Trigo, farinha, pão, farinha de milho, milho pipoca, banana	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. ochraceus</i> <i>A. versicolor</i> <i>Fusarium spp.</i>	<i>Penicillium citrinum</i> <i>P. citreo-viride</i> <i>P. cyclopium</i> <i>P. martensii</i> <i>P. patulum</i> <i>P. puberulum</i>	Aflatoxina, ocratoxina, esterigmatocistina, patulina, ácido penicílico, deoxinivalenol, nivalenol, zearalenona
Amendoim	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. ochraceus</i> <i>A. versicolor</i>	<i>Penicillium cyclopium</i> <i>P. expansum</i> <i>P. citrinum</i>	Aflatoxinas, ocratoxinas, patulina, esterigmatocistina
Maças, produtos de maçã	<i>Penicillium expansum</i>		Patulina
Tortas de carne, pó de cacau, queijo	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Cladosporium spp.</i>	<i>Penicillium viridicatum</i> <i>P. roqueforti</i> <i>P. patulum</i> <i>P. commune</i>	Aflatoxinas, ocratoxinas, patulina, ácido penicílico

QUADRO 1 – FUNGOS TOXIGÊNICOS ISOLADOS DE VÁRIOS ALIMENTOS

Tipos de alimentos	Gêneros / espécie toxigênicos		conclusão Micotoxina
Salame, lingüiça, maturados, presunto, curado, carne mofada, queijo	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. ochraceus</i> <i>A. versicolor</i>	<i>Penicillium viridicatum</i> <i>P. cyclopium</i>	Aflatoxinas, ocratoxinas, patulina, ácido penicílico, esterigmatocistina
Pimenta do reino, pimenta vermelha	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. ochraceus</i> <i>B.</i>	<i>Penicillium spp.</i>	Aflatoxinas, ocratoxinas
Feijão, soja, milho, sorgo, cevada	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. ochraceus</i> <i>A. versicolor</i>	<i>Penicillium viridicatum</i> <i>P. cyclopium</i> <i>P. citrinum</i> <i>P. expansum</i> <i>P. islandicum</i> <i>P. urticae</i>	Aflatoxinas, ocratoxinas, patulina, ácido penicílico, esterigmatocistina, citrinina, griseofulvina, alternatiol, altenuene, altertoxina
Doces refrigerados e congelados	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. versicolor</i>	<i>Penicillium viridicatum</i> <i>P. cyclopium</i> <i>P. citrinum</i> <i>P. martensii</i> <i>P. palitans</i> <i>P. puberulum</i> <i>P. roqueforti</i>	Aflatoxinas, ocratoxinas, patulina, citrinina, ácido penicílico, esterigmatocistina
Alimentos mofados de supermercados	<i>Penicillium cyclopium</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>F. solanum</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	Ácido penicílico, toxina T-2
Alimentos estocados em casa, refrigerados ou não	<i>Penicillium spp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	Aflatoxinas, ácido cógico, ocratoxinas, ácido penicílico

FONTE: DINIZ, 2002.

## 1.1 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

- Avaliar microbiologicamente os grãos de milho (*Zea mays* Linné) e soja (*Glycine max.* (Linné) Merrill) no cultivo convencional das sementes naturais e geneticamente modificadas.
- Avaliar micotoxicologicamente os grãos de milho (*Zea mays* Linné) e soja (*Glycine max.* (Linné) Merrill) no cultivo convencional das sementes naturais e geneticamente modificadas.
- Quantificar mediante contaminação microbiológica forçada por *Aspergillus flavus* a incidência micotoxicológica dos grãos de milho (*Zea mays* Linné) e soja (*Glycine max.* (Linné) Merrill) no cultivo convencional das sementes naturais e geneticamente modificadas.

## **CAPÍTULO 2: REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 MILHO**

Consumido pelos povos americanos desde o ano cinco mil a.C., o milho foi à alimentação básica de várias civilizações importantes ao longo dos séculos. Os Maias, Astecas e Incas reverenciavam o cereal na arte e religião e grande parte de suas atividades diárias eram ligadas ao seu cultivo. Com a descoberta da América e as grandes navegações do século XVI, a cultura do milho se expandiu para outras partes do mundo. Hoje é cultivado e consumido em todos os continentes e sua produção só perde para a do trigo e do arroz. No Brasil, o cultivo do milho vem desde antes do descobrimento. Os índios, principalmente os guaranis, tinham o cereal como o principal ingrediente de sua dieta. Com a chegada dos portugueses, o consumo aumentou e novos produtos à base de milho foram incorporados aos hábitos alimentares dos brasileiros. O milho é um dos cereais mais cultivados em todos os continentes. Originário da América espalhou-se por outras regiões logo após o descobrimento. Cristóvão Colombo trouxe as primeiras sementes à Europa, e os portugueses as levaram até a Ásia. Encontramos hoje aproximadamente 150 espécies de milho, com grande diversidade de cor e formato dos grãos. É um cereal fácil de ser plantado e colhido, seja ele milho duro, doce ou de pipoca. A partir da segunda metade do século XX, o desenvolvimento de espécies híbridas aumentou a produtividade e a qualidade do milho. No Brasil, esta é uma cultura que ocupa extensas áreas. Entre as principais regiões produtoras estão no noroeste e sudoeste do Paraná, no Triângulo Mineiro, no oeste de São Paulo e no Vale do Taquari, no Rio Grande do Sul (ABIMILHO, 2002).

A industrialização do milho para a alimentação humana divide-se basicamente em dois setores, que são o processamento a seco e a úmido. No Brasil, os dois setores são responsáveis por cerca de 15% do total de milho consumido no país (SETTI, 1992).

O milho é classificado conforme a classificação oficial do Estado do Paraná e o mercado geralmente trabalha com o milho contendo até 14% de umidade, 1% de impurezas e 6% ardidos (CLASPAR, 2004).

Apesar desta classificação, muitas empresas e agricultores fazem um contrato particular para estabelecer o teor de umidade dos grãos de milho, visto que este teor determina ou não uma maior proliferação de fungos e bactérias (microflora), buscando o teor máximo entre 13,0% e 13,5%.

A ação dos microrganismos afeta o poder germinativo das sementes, as qualidades organolépticas (sabor, aroma), o valor nutritivo e o aproveitamento industrial dos grãos e seus subprodutos.

### 2.1.1 Morfologia e Fisiologia do Milho

O milho é um dos alimentos mais nutritivos que existem. Puro ou como ingredientes de outros produtos, é uma importante fonte energética para o homem. Ao contrário do trigo e o arroz, que são refinados durante seus processos de industrialização, o milho conserva sua casca, que é rica em fibras, fundamental para a eliminação das toxinas do organismo humano. Além das fibras, o grão de milho é constituído de carboidratos, proteínas, vitaminas (complexo B), sais minerais (ferro, fósforo, potássio, cálcio) óleo e grandes quantidades de açúcares, gorduras, celulose e calorias.

Maior que as qualidades nutricionais do milho, só mesmo sua versatilidade para o aproveitamento na alimentação humana. Atualmente somente cerca de 15% de produção nacional se destina ao consumo humano e, mesmo assim, de maneira indireta na composição de outros produtos.

Dentro da classificação botânica, o milho pertence à ordem *Gramineae*, família *Poaceae*, sub-família *Panicoideae*, tribu *Maydeae*, gênero *Zea*, espécie *mays*. O milho passou a ser *Zea mays* L. *spp. mays*, já que no México possui um parente selvagem de espécie chamado teosinte, com nome científico *Zea mays*,

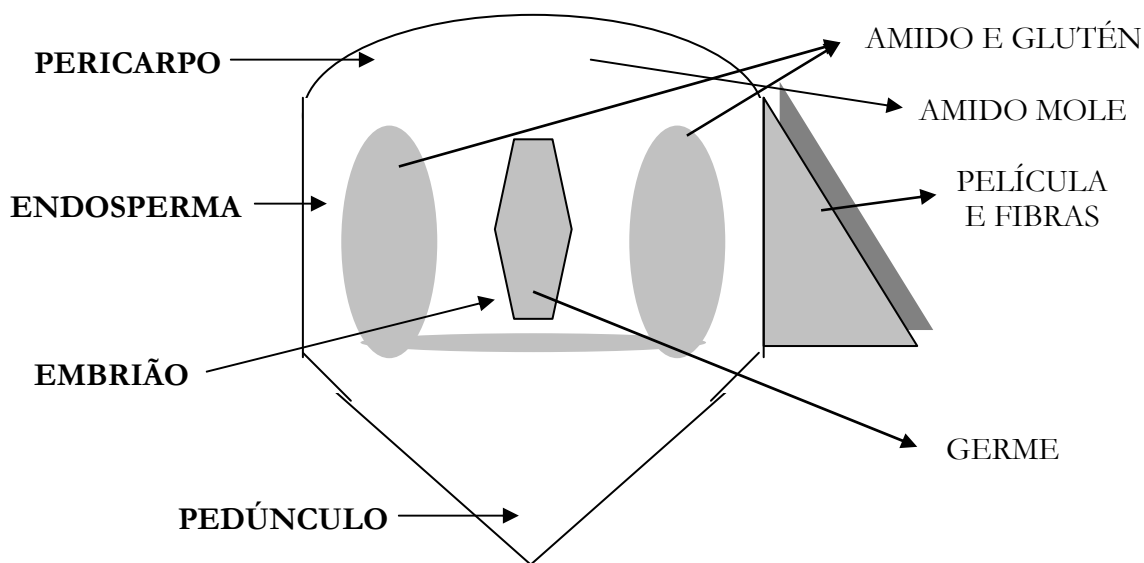
com suas subespécies diferenciadas do milho, como por exemplo: *Zea mays* spp. mexicana, *Zea mays perennis* entre outros. Quando se refere ao milho é essencial e obrigatório que se mencione o nome do cientista (*Zea mays* Linné), caso contrário irá fazer um equívoco de espécies e de produtos (PATERNIANI e CAMPOS, 1999).

O milho é uma planta essencialmente pan-mítica, uma vez que o monoecismo das Maydeae acentuou-se, com maior separação espacial da inflorescência feminina (espiga) e da masculina (pendão), sendo portanto uma planta alógama com praticamente 100% de reprodução cruzada.

A Figura 4 apresenta um grão de milho cortado na vertical com seus componentes básicos, os quais são:

- Pericarpo: corresponde a parte superior do grão de milho, onde encontra-se o amido mole;
- Endosperma: corresponde a maior parte do grão de milho, e é composto basicamente de 61% de amido e 7% de glúten que envolve os grânulos de amido e de uma pequena porcentagem de gordura, além de outros componentes. Este é denominado de amido duro;
- Película ou casca: é a parte externa que recobre o grão;
- Embrião: é a parte vegetativa do grão e a fonte de óleo do grão de milho, é denominado germe, sendo a parte superior o cotilédone, a parte centro-norte a plúmula, a parte centro-sul o cutelo e a parte inferior a radícula que liga ao pedúnculo;
- Pedúnculo: parte que sustenta o grão de milho na espiga.

FIGURA 4 - COMPONENTES BÁSICOS DO GRÃO DE MILHO



FONTE: CANÇADO, 2001.

Para a indústria, os componentes do grão de milho são apresentados de forma particular:

➤ Amido	60%
➤ Casca	6,5%
➤ Glúten	10%
➤ Óleo	3,5%
➤ Torta	5%
➤ Água	15%

O amido é a parte de maior interesse econômico devido a sua diversidade bem como o desenvolvimento de novos produtos e o aperfeiçoamento da qualidade de produtos já existentes.

O amido é composto basicamente por duas moléculas, a amilose e a amilopectina. A amilose é um composto de cerca de 250-300 unidades de glicose em ligações  $\alpha$ -1,4 dissacarídicas, em cadeia linear. A amilose possui uma contornação helicoidal na forma cristalina. Essa estrutura helicoidal possibilita a



formação de um complexo de cor azul, quando o iodo é colocado em contato com o amido. A reação com o iodo é usada como método para caracterizar um amido (BUDAVARI, 2001, p. 1567).

A amilopectina é um composto que contém 1000 unidades de glicose em ligações  $\alpha$ -1,6-dissacarídicas, com cadeia ramificada (BUDAVARI, 2001, p. 1567 ).

Essas estruturas de cadeias e a fórmula estrutural da amilose e da amilopectina podem ser vistas nas Figuras 5 e 6.

FIGURA 5 – FÓRMULA ESTRUTURAL DA AMIOLOSE

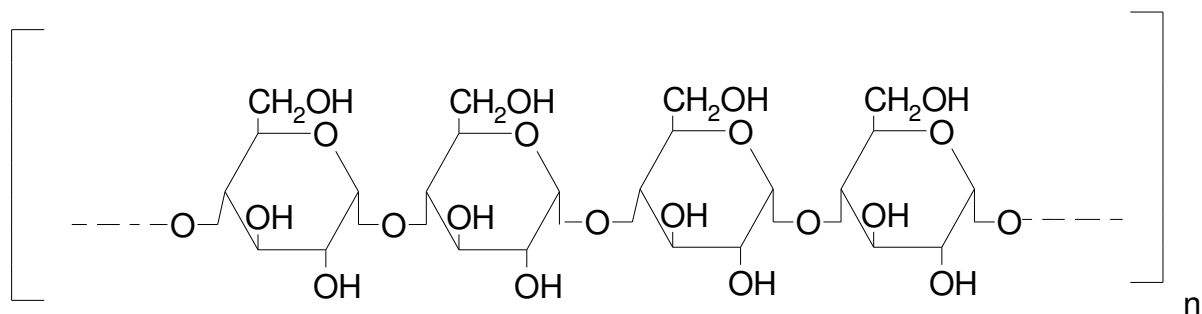
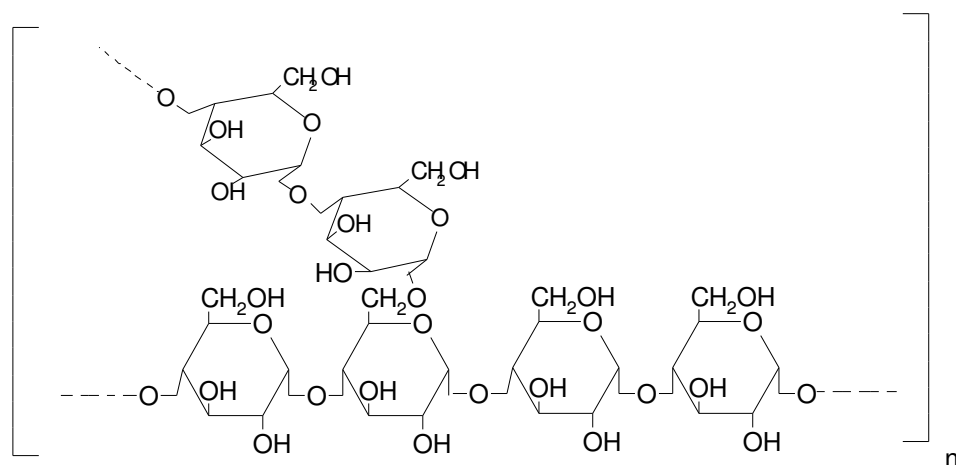


FIGURA 6 – FÓRMULA ESTRUTUTRAL DA AMILOPECTINA



O tipo de milho difere de acordo com a composição percentual de amilose e de amilopectina. O milho comum (também conhecido como milho híbrido) possui um teor de amilose de 27% e de amilopectina de 73%, enquanto o milho ceroso (também conhecido como milho *waxy*) possui 0% a 6% de amilose e 94% a 100% de amilopectina (BUDAVARI, 2001).

O milho (*Zea mays*) é uma gramínea originária da América, provavelmente na faixa tropical do hemisfério norte, da Argentina até o Canadá, quando os europeus chegaram ao continente.

É uma das culturas mais antigas do mundo, havendo provas de que é cultivado há pelo menos 4.000 anos. Logo depois do descobrimento da América foi levado para a Europa, onde era cultivado em jardins até que, seu valor alimentício tornou-se conhecido.

Passou então a ser plantado em escala comercial e espalhou-se desde a latitude de 58º norte (União Soviética) até 40º sul (Argentina).

Em termos de produção, é atualmente a segunda espécie mais cultivada no mundo, depois do arroz (*Oryza sativa*). Até a safra 98/99 o trigo (*Triticum sativum*) detinha a posição de segundo cereal mais produzido, a partir daí, foi suplantado pelo milho (GODOY, 2002).

O principal destino do milho é a alimentação animal, absorvendo em média 65% do total produzido. Portanto, a quantidade de milho demandada está intrinsecamente ligada às cadeias pecuaristas, mais precisamente, a avicultura e suinocultura.

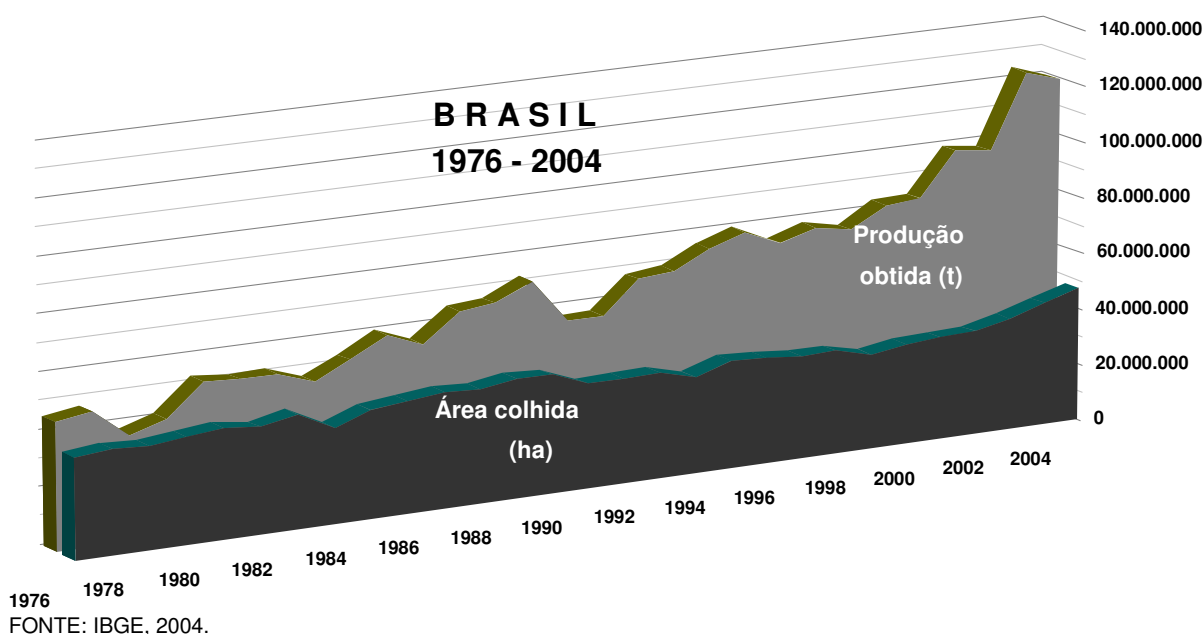
Neste contexto verifica-se que, nos últimos cinco anos, houve crescimento de 12% no consumo da China e dos Estados Unidos, sustentado principalmente pelo incremento nas atividades suinícola e avícola, de ambos os países. Na China, a suinocultura teve um salto de 36,4% enquanto que a avicultura variou 14%; nos Estados Unidos a suinocultura expandiu-se em 12,9% e, a avicultura em 18%.

### 2.1.2 Produção Brasileira e Paranaense de Milho

A produção nacional de cereais é praticamente consolidada, posto que a primeira safra é a responsável pela maior parte da produção total (de 66 a 70%). Falta ainda à parte referente a segunda e terceira safra, além da safra de inverno. As culturas mais importantes desse conjunto são o milho, o feijão e o trigo, sendo este predominante na Região Sul do país (IBGE, 2004).

O Gráfico 2 apresenta a produção de cereais, bem como a área colhida em hectares.

GRÁFICO 2 – PRODUÇÃO BRASILEIRA TOTAL DE CEREAIS



A área cultivada com milho, na primeira safra, no Brasil, decresceu 15% num período de seis anos, enquanto que a produção evoluiu 8%, baseada no incremento da produtividade, que foi de 27%. Na safra 94/95 a produtividade média nacional era de 2.660 kg/ha, na safra 00/01 subiu para 3.387 kg/ha. Ainda assim, a produtividade nacional está abaixo da média mundial que se situa na faixa de 4.200 kg/ha. Vale ressaltar que esta produção é de milho convencional, o milho Bt não existe relatório oficial de produção (IBGE, 2004).

Devido a fácil adaptação, o milho é atualmente cultivado na maior parte do território nacional, mas é nos Estados da região Sul que se concentra a maior oferta. O Estado do Paraná continua ainda sendo o principal produtor, está nesta liderança há vinte anos), perfazendo 26% do total ofertado (DERAL, 2004; ZARDO, 2004).

O milho é a principal cultura do Estado do Paraná, em termos de produção, respondendo por 48% do volume total de grãos. A soja é a espécie mais cultivada em termos de área, bem como a que tem maior participação no Valor Bruto da

Produção do Estado, respondendo por 17,2% enquanto que o milho contribui com 10,7%.

A área média cultivada no Estado é de 2,5 milhões de hectares por ano, somando-se a safra normal e a safrinha. A oferta da safra normal vai de janeiro a julho, e da safrinha, de maio a outubro. O Paraná concentra 26% da produção obtida na safra normal e 49% do total produzido na safrinha. Portanto, o Estado do Paraná continua sendo o principal produtor de milho do Brasil em ambas as safras (DERAL, 2004).

### 2.1.3 Milho Geneticamente Modificado

Algumas das características freqüentemente consideradas em diversos programas de melhoramento são: aumento de produtividade, resistência às pragas e doenças e qualidade nutricional dos alimentos, entre outras.

O progresso obtido pelo melhoramento de plantas tem alterado positivamente a qualidade nutricional dos alimentos, elevando seu teor de açúcares e de vitaminas, sua palatabilidade e a qualidade do óleo.

A utilização de híbridos de milho resultou em aumento de aproximadamente 75% na produtividade das lavouras em relação às cultivares não melhoradas.

O milho é cultivado comercialmente em mais de 100 países. Os três maiores produtores mundiais são Estados Unidos, China e Brasil. A produção de amido, que tem sua maior parte transformada em adoçantes e produtos fermentados, depende desse alimento. Do germe dos grãos, por sua vez, extrai-se o óleo de milho. Apenas uma pequena parcela dos grãos inteiros entra diretamente na alimentação humana. Entretanto, derivados dessa espécie estão na mesa do brasileiro diariamente na forma de cereais matinais, pães, bolos e produtos indiretos, como laticínios, ovos, etc.

A lagarta-do-cartucho é uma das mais importantes pragas que afetam genótipos tropicais do milho, chegando a causar até 34% de redução na produção dessa cultura no Brasil (CRUZ, 1995). Tradicionalmente o controle desta praga é realizado utilizando-se inseticidas químicos, além de trazer efeitos negativos como

a toxicidade ao homem, aos animais e ao ambiente. A Figura 7 mostra a ação da lagarta-do-cartucho (ordem *Lepidóptera*; espécie: *Spodoptera frugiperda*) alimentando-se da folha de milho.

FIGURA 7 – AÇÃO DA LAGARTA-DO-CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*) ALIMENTANDO-SE EM FOLHAS DE MILHO



FONTE: LOGUERCIO *et al.*, 2002.

A espécie bacteriana isolada do solo *Bacillus thuringiensis*, muito conhecida pela sua forma abreviada “Bt”, é de ocorrência cosmopolita, sendo encontrada nos mais diversos ecossistemas do planeta. O gênero *Bacillus* possui uma fase de esporulação característica no seu desenvolvimento, na qual o esporo bacteriano e cristais protéicos são simultaneamente formados, sendo estes últimos sob forma de inclusões parasporais. Tais cristais em Bt, também chamados de “ $\delta$ -endotoxinas” ou “ICPs” (do inglês *insecticidal crystal proteins*), e codificados pelos chamados genes *cry*, vêm sendo utilizados na formulação de *sprays* bioinseticidas comerciais, que forneceram níveis adequados e consistentes de controle biológico para diversas espécies de insetos-praga na agricultura. Essas formulações inseticidas, que incluem misturas de esporos e de cristais de Bt produzidos em grandes volumes de culturas bacterianas tiveram seu início na década de 1930, mas somente a partir do fim dos anos 50 foi que se iniciou sua produção em larga escala industrial, com o lançamento comercial de um spray inseticida, imediatamente seguido por produtos similares (LOGUERCIO *et al.*, 2002).

O progresso atual dos conhecimentos no campo da engenharia genética e da biotecnologia moderna tem permitido o desenvolvimento de alternativas concretas para viabilizar em emprego mais amplo do controle biológico de pragas na cultura do milho. Dentre elas, destaca-se a possibilidade de obtenção e uso de plantas transformadas que contêm genes codificadores das entomotoxinas de Bt.

A  $\delta$ -endotoxina *Cry1Ab* está disponível em formulações comerciais e vem sendo amplamente usada na agricultura até mesmo por produtores orgânicos. Portanto, o uso da Bt para o controle biológico das pragas é um procedimento bem conhecido e aceito há mais de 30 anos.

Alguns exemplos de eventos de transformação de milho contendo, principalmente, o gene *Cry1Ab* ( com e sem alteração de frequência de códons) já foram desenvolvidos e estão disponíveis no mercado, apesar de todos eles serem com especificidade direcionada para a “broca-européia-do-milho”, praga de maior significância econômica para as lavouras norte-americanas e européias (Quadro 2).

QUADRO 2 – PRINCIPAIS EVENTOS DE TRANSFORMAÇÃO DE MILHO Bt DISPONÍVEIS NO MERCADO

Eventos	Nome Comercial	Empresa Fornecedora
176	<i>KnockOut</i>	Novartis
	<i>NaturGard</i>	Mycogen
Bt 11	<i>YieldGard</i>	Novartis
Mon810	<i>YieldGard</i>	Monsanto
DBT418	<i>Bt-Xtra</i>	Dekalb
CBH351	<i>StarLink</i>	Aventis

FONTE: LOGUERCIO *et al.*, 2002.

A escolha e utilização de híbridos de milho contendo genes codificadores de entomotoxinas de Bt para uso em manejo integrado de pragas (MIP), em uma determinada área, dependem de vários aspectos importantes a considerar:

- ❖ Qual o sistema de produção utilizado e o nível de produtividade e retorno econômico esperado;

- ❖ Qual (is) a (s) principal (is) praga(s) que podem prejudicar a(s) lavoura (s);
- ❖ Qual o potencial de infestação da (s) mesma (s);
- ❖ Quais os métodos disponíveis para o controle;
- ❖ Com qual (is) método(s) obter-se-ia uma maior eficiência econômica;
- ❖ Quais os riscos de desenvolvimento de resistência pelas populações de inseto-praga, entre outros.

Sabe-se que o uso amplo e indiscriminado de um mesmo genótipo não é recomendado devido ao problema de uniformização genética; da mesma forma que para inseticidas químicos usados continuamente em áreas geográficas determinadas, populações de campo de várias pragas são capazes de desenvolver resistência à  $\delta$ -endotoxinas de Bt seja na forma de formulações comerciais tradicionais do tipo *sprays*, seja na forma de toxinas expressas pela planta (TABASHNIK *et al.*, 1997).

Como o milho é parte integrante de rações utilizadas na indústria de criação e processamento de animais, levantam-se algumas questões de biossegurança relacionadas com o uso do milho-Bt. Porém as informações de diversos autores e instituições de pesquisa informam publicamente que experimentos de campo e de alimentação não detectaram diferenças de comportamento e crescimento entre animais alimentados com milho-Bt e com milho convencional. Além disso, é interessante citar um benefício indireto na qualidade dos grãos de milho-Bt e, por conseguinte, na segurança de alimentos e rações. As reduções de danos causados por insetos em espigas, reduzem a incidência de fungos produtores de fumonisinas (LOGUERCIO *et al.*, 2002).

A legislação para comercialização do milho geneticamente modificado Bt no Brasil ainda não existe, há indícios nos corredores do Senado juntamente com a CTNBio para que seja liberada, visto que a Comunidade Comum Européia – CCE em decisão do Conselho que autoriza a colocação no mercado de milho doce derivado do milho geneticamente modificado da linhagem Bt como novo alimento ou novo ingrediente alimentar nos termos do Regulamento (CE) nº 258/97 do

Parlamento Europeu e do Conselho. Essa liberação consta no Boletim EU 1/ 2 de 2004, produzindo a referida autorização efeitos em 18 de abril de 2004.

Porém, o que existe é liberação de plantio para fins de pesquisa e não comercialização, conforme comunicado nº 39 de 27 de maio de 1998 da CTNBio – Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, publicado em Diário Oficial da União nº 99 de 27.05.1998, seção 3.

## 2.2 SOJA

A soja (nome científico – *Glycine max*) é uma leguminosa domesticada pelos chineses há cerca de cinco mil anos. Há três mil anos a soja se espalhou pela Ásia, onde começou a ser utilizada no consumo humano por seu alto valor alimentício. No final do século XV chegou ao ocidente, mas foi só no início do século XX que passou a ser cultivada comercialmente nos Estados Unidos. A partir de então, houve um rápido crescimento na produção, com o desenvolvimento dos primeiros cultivares comerciais (SANTOS, 1995; FERREIRA, 1998; CONWAY, 2003).

Alguns historiadores falam que a soja chegou ao Brasil em 1882, outros em 1892, e outros apontam que o grão chegou com os primeiros imigrantes japoneses em 1908. No RS, foi introduzida oficialmente em 1914 enquanto no PR o seu cultivo iniciou-se em 1954. Porém, a expansão da soja no Brasil aconteceu nos anos 70, com o interesse crescente da indústria de óleo e a demanda do mercado internacional. No início o plantio estava concentrado nos estados do Sul do País, aproveitando a entressafra da cultura do trigo. Até 1975, toda a produção brasileira de soja era realizada com cultivares e técnicas importadas dos Estados Unidos, onde as condições climáticas e os solos são diferentes do Brasil. Assim, a soja só produzia bem, em escala comercial, nos Estados do Sul, onde as cultivares americanas encontravam condições semelhantes a seu país de origem. Com a criação de inúmeros outros cultivares a soja passou a ser plantada também em regiões de clima tropical no Brasil (Centro-Oeste, Nordeste e Norte). A soja viabilizou a implantação de indústrias de óleo, fomentou o mercado de sementes e



deu estabilidade à exploração econômica das terras onde antes só existia matas e cerrados (ORNELLAS, 2000; CONWAY, 2003).

O grão da soja dá origem a produtos e subprodutos utilizados atualmente pela agroindústria de alimentos e indústria química. A proteína de soja dá origem a produtos comestíveis (ingredientes de padaria, massas, produtos de carne, cereais, misturas preparadas, bebidas, alimentação para bebês, confecções e alimentos dietéticos). É utilizado também pela indústria de adesivos, nutrientes, alimentação animal, adubos, formulador de espumas, fabricação de fibra, revestimento, papel e emulsão de água para tintas. A soja integral é utilizada pela indústria de alimentos em geral e o óleo cru se transforma em óleo refinado e lecitina, que dá origem a inúmeros outros produtos (CONWAY, 2003).

### 2.2.1 Morfologia e Fisiologia da Soja

A soja pertence à classe *Dicotyledoneae*, à subclasse *Archichlamydeae*, à ordem *Rosales*, à subordem *Luguminosineae*, à família *Leguminosae*, à subfamília *Papilionaceae*, à tribo *Phaseoleae*, ao gênero *Glycine* Linné, ao subgênero *Glycine* subgênero soja (Moench) e à espécie *Glycine max* (Linné) Merrill (BORÉM, 1999b).

A região central da China, provavelmente, foi o centro genético primário da soja, e a Manchúria o secundário, ou centro de diversidade genética. Domesticada, portanto, em latitudes compreendidas entre 35° e 45° N, a soja foi disseminada posteriormente para a Europa, América do Norte e América do Sul. No Brasil, foi introduzida na Bahia em 1882 e depois, na região sul do país, onde apresentou melhor adaptação, face às condições bioclimáticas mais semelhantes aquelas das regiões tradicionais de cultivo (CAMPELO *et al.*, 1998).

Na região sul do Brasil, os programas de melhoramento da soja basearam-se, inicialmente, em introduções de genótipos desenvolvidos no sul dos EUA e, posteriormente, no desenvolvimento de cultivares mais bem adaptado. Na região de expansão e região potencial, compreendendo parte do Norte e Nordeste do Brasil, os programas de melhoramento buscaram o desenvolvimento de genótipos

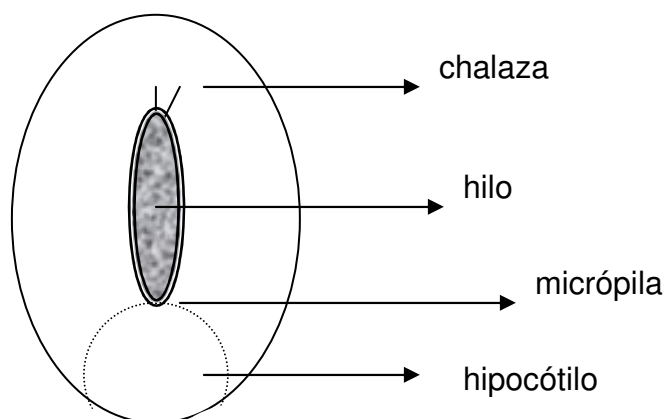
com característica de período juvenil longo, por causa das limitações no porte e na produtividade (PALUDZYSZYN *et al.*, 1993). Essas características são função do crescimento da soja no período vegetativo, o qual é encurtado consideravelmente em latitudes menores, onde a amplitude entre o dia mais curto e o dia mais longo do ano é menor (SPEHAR *et al.*, 1993).

PALUDZYSZYN *et al.* (1993) ressaltaram que os primeiros cultivares de soja desenvolvidos para as regiões Norte e Nordeste do Brasil (Tropical e Timbira) apresentavam como fonte de período juvenil longo o genótipo PI 240664. Posteriormente, a linhagem IAC 73-2736, que é uma mutação de florescimento tardio da Hardee, foi muito utilizada, originando as cultivares de soja, como BR-10 (Teresina), BR-11 (Carajás), BR-28 (Seridó) e Embrapa 9 (Bays).

A existência de germoplasma de soja adaptável às regiões tropicais permite que sua exploração constitua uma atividade econômica alternativa, podendo dar uma significativa contribuição para o fortalecimento da economia agrícola regional. A propósito, a soja poderá fornecer matéria-prima para as indústrias de óleos e rações; poderá promover o aproveitamento de áreas inexploradas, principalmente de cerrados; poderá contribuir como fator de modernização da agricultura e, finalmente, constituir importante item na alimentação humana, suprimindo, as carências protéicas generalizadas na região.

Os componentes básicos do grão de soja são mostrados na Figura 8.

FIGURA 8 – COMPONENTES BÁSICOS DO GRÃO DE SOJA



FONTE: SANTOS, 1995.

O hipocótilo é a parte do caulículo ou o eixo do espermatófito.

A micrópila é a abertura do óvulo, ora um simples poro, ora um canalículo, pelo qual entram os gametas masculinos.

O hilo é o núcleo do grão de soja.

A chalaza é o ponto por onde o óvulo está aderido ao funículo.

O grão de soja contém aproximadamente 38% de proteína, 18% de óleo, 30% de carboidratos e fibras e 14% de umidade, cinzas e componentes secundários.

Assim como muitas outras plantas, a soja também contém alguns fatores antinutricionais. Os inibidores de tripsina, por exemplo, impedem a ação de enzimas digestivas, como a tripsina, tornando a digestão da soja crua extremamente difícil. O cozimento e o aquecimento dos grãos ou do farelo de soja inativam os inibidores de tripsina. Na prática, o farelo de soja e os ingredientes protéicos originados da soja são sempre cozidos antes do consumo. Aproximadamente 60% de todos os produtos alimentícios contém ingredientes derivados de soja. Constituem-se seus principais produtos o óleo de soja e os ingredientes protéicos da soja, de múltipla utilidade (FBCI, 2004).

O óleo de soja é rico em ácidos graxos polinsaturados. A composição do óleo de soja em ácidos graxos perante outros vegetais produtores de óleo é apresentada na Tabela 1.

TABELA 1 – TEOR DE ÁCIDOS GRAXOS DE ALGUNS ÓLEOS VEGETAIS

Ácidos Graxos (%)	$\eta:\pi$	Óleo de algodão	Óleo de canola	Óleo de coco	Óleo de amêndoa do dendê	Óleo de Girassol	Óleo de milho	Óleo de soja
Ácido láurico	12:0	0,0	0,0	49,0	47,0	0,0	0,0	0,0
Ácido mirístico	14:0	0,8	0,1	17,5	16,0	0,0	0,0	0,1
Ácido palmítico	16:0	22,7	4,0	9,0	8,0	5,9	10,0	10,3
Ácido esteárico	18:0	2,3	1,5	3,0	2,5	4,5	4,0	3,8
Ácido oléico	18:1	17,0	61,5	5,0	16,5	19,5	24,0	22,8
Ácido linoléico	18:2	51,5	20,0	1,8	2,5	65,7	59,0	51,0
Outros	$\eta:\pi$	5,7	12,9	14,7	7,5	4,4	3,0	12,0

FONTE: FBCI, 2004; FAO, 2004; VIRTUAL CHEMBOOK, 2004.

NOTA:  $\eta$  = número de átomos de carbono;  $\pi$  = número de duplas ligações.

Os ácidos graxos monoinsaturados e os polinsaturados deve-se ressaltar que são os que trazem algum benefício ao ser humano. Os ácidos graxos são

classificados de acordo com as ligações duplas existentes em sua cadeia carbônica:

- ♦ Ausência de ligações duplas: ácido graxo saturado, exemplo: gorduras animais, manteiga, leite e derivados;
- ♦ Presença de uma ligação dupla: ácido graxo monoinsaturado, exemplo: óleo de oliva e algumas frutas oleaginosas;
- ♦ Presença de mais de uma ligação dupla: ácido graxo polinsaturado, exemplo: óleos vegetais.

Os ácidos graxos insaturados são classificados de acordo com a localização da dupla ligação:

- ♦ Ômega 9: ácido oléico e palmitoléico: óleo de oliva;
- ♦ Ômega 6: ácido linoléico e araquidônico: óleos de soja, milho, algodão e girassol;
- ♦ Ômega 3: ácido linolênico: linhaça e óleo de peixe.

A soja consiste também em importante fonte de diversos minerais, vitaminas (inclusive as vitaminas A, B1 e B2), tocoferol, fitoestrógenos e fitoesteróis (FBCI, 2004).

A composição química do grão de soja pode-se analisar na Tabela 2.

TABELA 2 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO GRÃO DE SOJA

TABELA 2 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO CHÃO DE COCA					
Análise	Unidade	Valores	Análise	Unidade	Valores
Energia	Kcal	417	Lipídios	g/100g	19,0
Umidade	g/100g	11,0	Carboidratos		23,0
Proteínas		38,0	Cinzas		5,0
Minerais					
Ca	mg/100g	240	Na	mg/100g	1,0
P		580	K		1900
Fe		9,4	Mg		220
Zn	µg/100g	3200	Cu	µg/100g	980
Vitaminas					
A	µ/100g	12	B1 / B2	mg/100g	0,83 / 0,30
E	mg/100g	1,80	Niacina		2,20
Fibra Alimentar*					
Solúveis H <sub>2</sub> O	g/100g	1,8	Não Solúveis H <sub>2</sub> O	g/100g	15,3

FONTE: KAGAWA, 1995.

NOTA: \* A fibra alimentar é constituída pelo teor de fibras propriamente ditas e pelo teor dos carboidratos insolúveis.

### 2.2.2 Produção Brasileira e Paranaense de Soja

A soja é uma cultura milenar, mas ganhou destaque econômico apenas na segunda metade do século XX, no início da década de 1970, quando ocorreu a maior alta nos preços internacionais. Com isso incentivou a produção mundial do grão de soja.

Nesta mesma época foi quando a região sul do país começou a alavancar a economia agrícola brasileira (DERAL, 2004).

Ainda que represente a principal fonte de óleo vegetal do mundo inteiro, na verdade cultiva-se a soja basicamente como ração animal; o principal interesse dos produtores reside muito mais em sua composição protéica do que em seu óleo. O volume líquido de soja cultivada, entretanto, faz do óleo importante subproduto da cultura.

Muitos fatores contribuíram para que a soja se estabelecesse como importante cultura, primeira no sul do Brasil e após nos Cerrados do Brasil Central. Alguns desses fatores contribuíram para o crescimento na Região Sul, pode-se destacar:

- ◆ Semelhança de ecossistemas entre os diversos países produtores, favorecendo o êxito de transferência e adoção de variedades, além da tecnologia de produção;
- ◆ Mercado internacional em alta, principalmente em resposta à frustração da safra de grãos na Rússia e China;
- ◆ Substituição de gorduras animais (banha e manteiga) por óleos vegetais saudáveis ao consumo humano;
- ◆ Facilidades de mecanização total da cultura;

- ♦ Melhorias nos sistemas viário, portuário e de comunicações, agilizando o transporte e as exportações.

Os fluxos comerciais do complexo soja no mercado brasileiro e possíveis alterações dos mesmos nas últimas 6 safras estão inteiramente ligados a fatores de oferta, demanda, logística e estrutura tarifária / fiscal.

O crescimento se refletiu principalmente nas exportações de grão, em detrimento do farelo e óleo: a Lei Kandir, a estrutura fiscal brasileira e a política de importações da China tiveram papel fundamental no crescimento das exportações da matéria-prima.

O Paraná é o 2º produtor nacional, participando com cerca de 21% no total produzido e os rendimentos médios obtidos, ao redor de 3.000 kg/ha, estão entre as maiores mundiais. Atualmente, a soja em grão participa com cerca de 22,4 % no Valor Total da Produção Agropecuária do Paraná e o complexo: grão, farelo e óleo, com 34 %, aproximadamente, do valor total arrecadado nas exportações (HUBNER, 2004).

Segundo dados do último Censo Agropecuário do IBGE, em 1996, 69.738 produtores estavam envolvidos com a cultura no Paraná e o tamanho médio da propriedade era de 32,4 ha. Atualmente, devido à expansão da área, o estado possui ao redor de 100.000 produtores (IBGE, 2004).

Anteriormente a 1996, ano em que a cobrança de ICMS foi desonerada das exportações pela Lei Kandir, a área estadual variava em torno de 2,1 milhões de ha. Atualmente ela supera os 3,5 milhões de ha, graças aos ganhos de preço interno provocados pelo aumento do dólar e também por causa do recuo da área de milho da safra normal que vem sendo substituído pelo cultivo de milho na safrinha, após a colheita da soja.

Foi com o cultivo da soja que as lavouras mecanizadas tiveram significativa expansão, trazendo considerável mudança tecnológica, principalmente através do Programa de Manejo e Conservação de Solos, fomentado pelo governo estadual que estimulou a ação integrada em micro bacias hidrográficas.

A soja tem sido uma cultura marcante no cenário estadual, desenvolvendo a agricultura e gerando renda em toda a cadeia. Pela sua vasta e crescente gama de utilizações, deverá manter importância econômica durante este século.

### 2.2.3 Soja Geneticamente Modificada

Os alimentos geneticamente modificados foram comercializados pela primeira vez em 1994, com o lançamento do tomate Flavr Savr, nos Estados Unidos. Desde então, variedades geneticamente modificadas vêm sendo cultivadas em áreas crescentes em diversos países, tanto nas Américas quanto na Europa, na África e na Oceania. A superfície cultivada com variedades transgênicas atingiu, em 2001, 52,6 milhões de hectares, envolvendo mais de 16 países e dezenas de espécies importantes na produção de víveres. Dentre os grandes produtores e exportadores mundiais de alimentos, apenas o Brasil ainda não, oficialmente com uma legislação comercial, se utiliza dessa tecnologia (USDA, 2004).

A soja (*Glycine max*) é cultivada em mais de 80 países, gerando um volume superior a 162 milhões de toneladas métricas de grãos. O Brasil ocupa o segundo lugar no ranking dos maiores produtores e exportadores dessa leguminosa. Utilizada como constituinte em muitos alimentos processados, a soja representa a principal fonte de óleo e proteína para rações destinadas à alimentação animal (IBGE, 2004).

As ervas daninhas disputam com as plantas água, luz e nutrientes, além de prejudicar o volume e a qualidade da colheita. Temperaturas elevadas não estimulam só o crescimento da soja como também o crescimento de ervas daninhas. Quase todas as culturas de soja precisam de tratamento com herbicidas. Existem no mercado muitos herbicidas eficazes para a soja.

Hoje no mercado existem dois tipos de planta de soja geneticamente modificada tolerante a herbicida, um é ao glifosato e o outro é ao glufosinato de amônio. Os dois são herbicidas não-seletivos de amplo espectro, que matam grande variedade de plantas, pois não distinguem entre ervas daninhas e plantas

úteis. Tornando a planta tolerante a um ou a ambos os herbicidas, pode-se empregar o herbicida selecionado para eliminar as ervas daninhas sem lesar a lavoura. A vantagem desses herbicidas, comparando-se com muitos outros, é o fato de serem menos tóxicos e facilmente decompostos no meio ambiente. Ambos interferem na produção de aminoácidos, embora de maneiras diferentes.

Deve ressaltar que existem algumas variedades de soja que são tolerantes ao herbicida seletivo sulfoniluréia. Elas não se desenvolveram pela engenharia genética e sim por métodos de melhoramento tradicionais. A sulfoniluréia age no combate às ervas daninhas de folhas largas.

A soja Roundup Ready® (RR) é manipulada geneticamente de modo a tolerar (a aplicação de doses normais do) produto de controle de ervas daninhas glifosato, ingrediente ativo do herbicida não-seletivo Roundup®. O glifosato bloqueia a enzima EPSP sintase (sintase da enzima do 5 enol-piruvilil chiquimato e fosfato), envolvida na via de produção de aminoácidos aromáticos em plantas. Pela introdução de um gene que codifica uma EPSP sintase alternativa, que não é desativada pelo glifosato, a soja se torna insensível ao glifosato. O gene que codifica a EPSP sintase alternativa deriva da bactéria do solo *Agrobacterium cepa CP4*. A planta de soja RR continua sintetizando os aminoácidos aromáticos, mesmo na presença de glifosato (COX, 1998; FBCI, 2004)

Nem animais nem seres humanos produzem aminoácidos aromáticos, pois neles essa via não está presente. Isto explica a baixa toxicidade do glifosato para animais e seres humanos.

Numa reação alérgica, o sistema imune do organismo reage intensamente com uma ou mais substâncias que não causam problemas a pessoas não alérgicas. O pólen, as gramíneas e as ervas daninhas, a poeira, os fungos, os animais domésticos, certos alimentos e drogas e veneno de inseto são responsáveis pela maior parte das reações alérgicas. A soja é um dos nove alimentos alergênicos mais comuns.

A soja RR foi testada minuciosamente em propriedades alergênicas da proteína adicionada. Os resultados revelaram inequivocamente que a enzima EPSP sintase introduzida não representa motivo algum de preocupação em



termos de alergia. Quem é alérgico à soja convencional deve evitar todos os tipos de soja. Quem não é alérgico à soja tradicional pode consumir produtos feitos com soja RR sem preocupação alguma com a alergenicidade (FBCI, 2004).

A modificação genética da soja RR não resultou em nenhuma mudança no padrão de consumo dos produtos de soja nos países aonde esse transgênico vem sendo comercializado (COSTA e BORÉM, 2003)

A Comissão Europeia aprovou a importação, o armazenamento e o processamento de soja RR na União Europeia em 3 de abril de 1996, em acordo com a Portaria 90/220/EEC (EU, 2004).

## 2.3 CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE MILHO E SOJA

A contaminação microbiológica do milho e soja, segundo a Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da ANVISA, solicita a análise de coliformes a 45º C/g (equivalente à denominação de “coliformes de origem fecal”) e *Salmonella* sp/25g (SILVA, N. et al., 2001).

Coliformes são definidos como bastonetes gram-negativos aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de endósporos, que fermentam lactose com produção de gás. Como alguns coliformes não são enterobactérias, mas sim bactérias comumente encontradas em amostras de plantas e solo, muitos padrões para alimentos e água especificam a identificação de coliformes fecais. O coliforme fecal predominante é a *Escherichia coli*, que constitui uma grande proporção da população bacteriana intestinal humana. Existem testes especializados para distinguir entre coliformes fecais e não fecais. Em condições normais os coliformes não são por si só patógenos, embora algumas linhagens possam causar diarreias e infecções urinárias oportunistas. Responsável por infecção urinária, enterite, meningite neonatal, pneumonia e septicemia hospitalar, endoftalmite, artrite séptica, endocardite e abscessos hepático e cerebral. (TORTORA *et al.*, 2000; TAVARES, 2002).

Os membros do gênero *Salmonella* são potencialmente patogênicos. São habitantes comuns do trato intestinal de vários animais (mamíferos, aves, répteis e

artrópodes), principalmente galinhas e bovinos. Em condições sanitárias precárias podem contaminar alimentos.

Em vez de várias espécies, o gênero *Salmonella* é considerado, pelo *Bergey's Manual*, uma simples espécie dividida em aproximadamente 2000 sorovares (ou sorotipos), diferenciados por testes sorológicos (TORTORA *et al.*, 2000; TAVARES, 2002).

Como o interesse do estudo encontra-se na área micotoxicológica, explora-se a necessidade de análise de fungos nos cereais em estudo neste trabalho, milho e soja.

## 2.4 CONTAMINAÇÃO MICOTOXICOLÓGICA DE MILHO E SOJA

As principais espécies de fungos toxigênicos com a capacidade de produzir micotoxinas são dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*.

Em se tratando de aflatoxinas, as micotoxinas começaram a ser identificadas a partir de 1960, constituindo-se, portanto, em um campo de conhecimento relativamente recente. Porém, sabe-se que em 1943, já haviam estudos sobre a patulina.

Na contaminação micotoxicológica do milho há uma legislação específica para aflatoxinas, porém devido a sua composição sabe-se que poderá ter uma contaminação por outros fungos micotoxicológicos. A literatura apresenta a zearalenona, além das fumonisinas.

Em 1960, um grave acidente econômico na Inglaterra com a morte de mais de 400.000 perus de 4 a 6 semanas de idade, o qual foi provocado por uma doença desconhecida, que por não apresentar causa aparente, foi denominada de *Turkey x Disease*, cujo desaparecimento dos sintomas ocorria com a mudança de rações. Iniciaram-se então, estudos para descobrir a causa do distúrbio. Verificou-se um ponto comum na morte dos perus e outras aves de criação na Inglaterra a ingestão de rações que continham farelo de amendoim de procedência brasileira. Posteriormente, constatou-se que farelos provenientes de outras regiões também eram responsáveis pelos mesmos sintomas clínicos e histopatológicos (Uganda,

Kenia, Nigéria, África Ocidental, Zâmbia e Índia). Observaram que as rações apresentavam grande número de hifas e com o isolamento do fungo e esse identificado como *Aspergillus flavus* sendo o fator tóxico denominado aflatoxina (A : *Aspergillus*, FLA : *flavus*) e detectado por CCD (cromatografia de camada delgada), separando-se em quatro componentes com fluorescência azul e verde, sob luz ultra-violeta, aflatoxina B (*blue*: azul) e G (*green*: verde) (SCUSSEL, 1998).

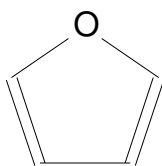
As aflatoxinas são substâncias químicas de mesma origem, que diferem entre si apenas por pequenas variações em sua composição e estrutura molecular, pertencem à classe de compostos denominados furanocumarinas (ARAÚJO, 1999).

São metabólitos secundários, que podem ser produzidos por algumas espécies de fungos, principalmente *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*.

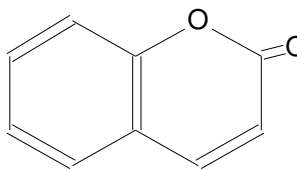
A palavra aflatoxina serve para designar 17 substâncias químicas, mas normalmente se refere a quatro substâncias principais, as aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>. Estas apresentam fluorescência, azul-violeta ou esverdeada, quando submetidas à luz ultravioleta e, por isso, são representadas pelas letras B (*blue* – azul) ou G (*green* – verde). Os índices 1 e 2 referem-se à sua mobilidade cromatográfica (OPS, 1983).

A Figura 9 mostra as estruturas do furano, da lactona e da cumarina, onde todas as aflatoxinas possuem um núcleo cumarina associado com o furano e a lactona. As aflatoxinas do grupo B possuem um anel ciclopentenona e as do grupo G, lactona insaturada. A Figura 10 pode-se enxergar claramente as funções químicas de cada micotoxina, a composição de furanos, lactonas e cumarinas existentes, bem como os radicais que diferenciam os tipos de Aflatoxinas: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>.

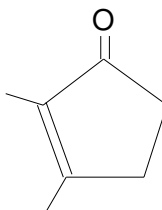
FIGURA 9 – ESTRUTURA MOLECULAR DO FURANO, DA CUMARINA E DAS LACTONAS



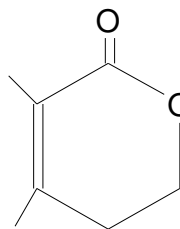
FURANO



CUMARINA



LACTONA

LACTONA  
INSATURADAFIGURA 10 – ESTRUTURA MOLECULAR DAS MICOTOXINAS AFLATOXINAS B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> E G<sub>2</sub>

continua

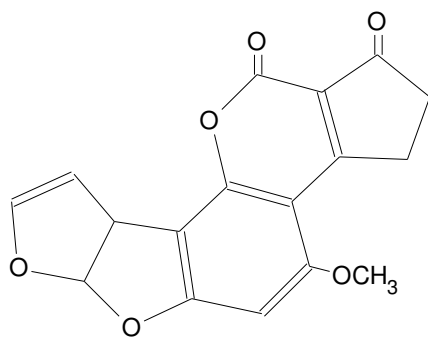
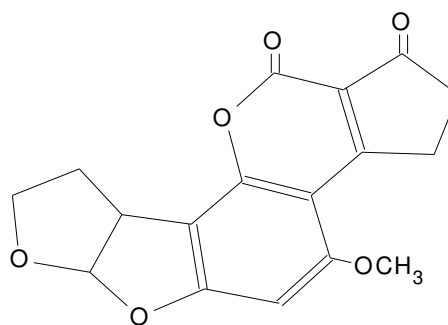
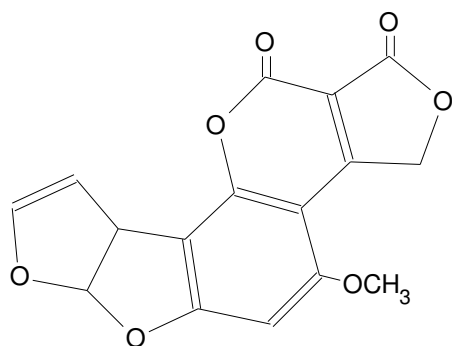
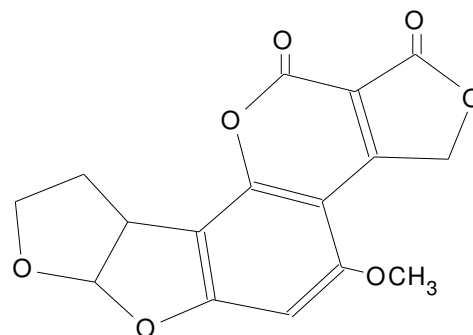
AFLATOXINA B<sub>1</sub>AFLATOXINA B<sub>2</sub>

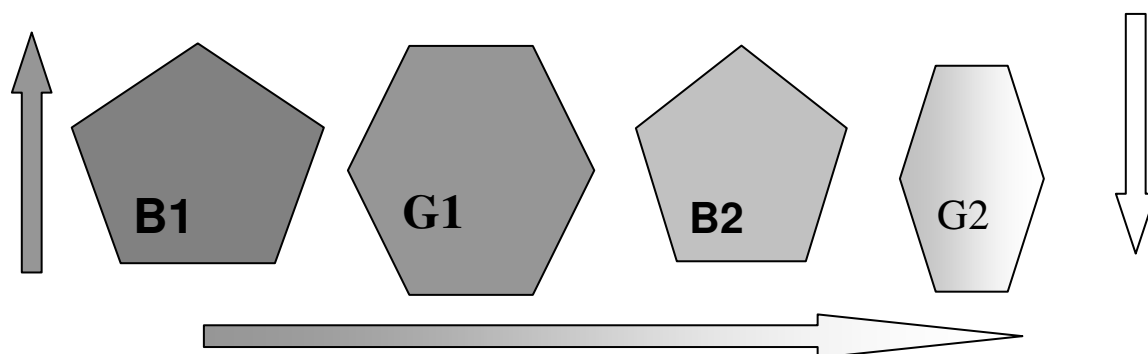
FIGURA 10 – ESTRUTURA MOLECULAR DAS MICOTOXINAS AFLATOXINAS B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> E G<sub>2</sub>

conclusão

AFLATOXINA G<sub>1</sub>AFLATOXINA G<sub>2</sub>

A Figura 11 apresenta o grau de toxicidade das Aflatoxinas em ordem decrescente, iniciando da mais tóxica e finalizando a menos tóxica, neste caso da B<sub>1</sub> para G<sub>2</sub>, respectivamente.

FIGURA 11 – GRAU DE TOXICIDADE DAS AFLATOXINAS



FONTE: CANÇADO, 2001.

TRENCK e HARTMANN (1970), MARTIN e GILMAN (1976), BULLERMAN *et al.* (1984) e BUDAVARI (2001), citam o grão de milho como substrato apropriado ao crescimento de espécies aflatoxigênicas e conseqüentemente à produção de aflatoxinas.

De acordo com Pitt e Hocking (1997), os principais fatores que afetam o crescimento de fungos em alimentos são a disponibilidade de água livre (atividade de água), o efeito de solutos específicos, a concentração de íons hidrogênio (pH), a temperatura de processo e de estocagem, a atmosfera de armazenamento, a consistência do alimento, as características nutricionais e o efeito dos conservantes. Esses fatores não atuam isoladamente sobre os microrganismos, mas sim na forma combinada, o que resulta em sinergismo e maior segurança para os alimentos (TANIWAKI e SILVA, 2001).

Segundo BULLERMAN *et al.* (1984), a produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* só pode iniciar-se com atividade de água ( $A_w$ ) a partir de 0,83, apesar de que o crescimento micelial pode ocorrer a partir de atividade de água de 0,78. Contudo, a  $A_w$  mínima para o crescimento e produção de aflatoxinas é influenciada pela temperatura; e temperaturas abaixo de 13° C são capazes de prevenir a formação de aflatoxinas para maioria dos “*strains*” de *Aspergillus flavus*. Temperatura entre 24 – 30° C mostra ser mais favorável à produção de aflatoxinas.

Considerando esses dados, de temperatura e atividade de água, e as condições precárias de colheita e pós-colheita a que o milho pode ser submetido no país, segundo CELARO (1992), é válido afirmar que o potencial de contaminação do milho armazenado no Brasil, nas várias regiões agroclimáticas, é grande.

A ocorrência das fumonisinas em alimentos principalmente em milho tem sido relacionada às doenças muitas delas fatais em animais (SCUDAMORE *et al.*, 1998). A toxidez mais dramática ocorre em cavalos e outros eqüinos, causando a LEM (leuco-encefalomalácia), que se caracteriza pela formação de cavitações na substância branca do cérebro acompanhada de Amolecimento da mesma,

resultando em morte. Além de edema pulmonar em suínos e câncer hepático em ratos. Em humanos, apesar de não ter sido confirmado, existem indícios que as fumonisinas podem causar câncer de esôfago e fígado (DINIZ, 2002).

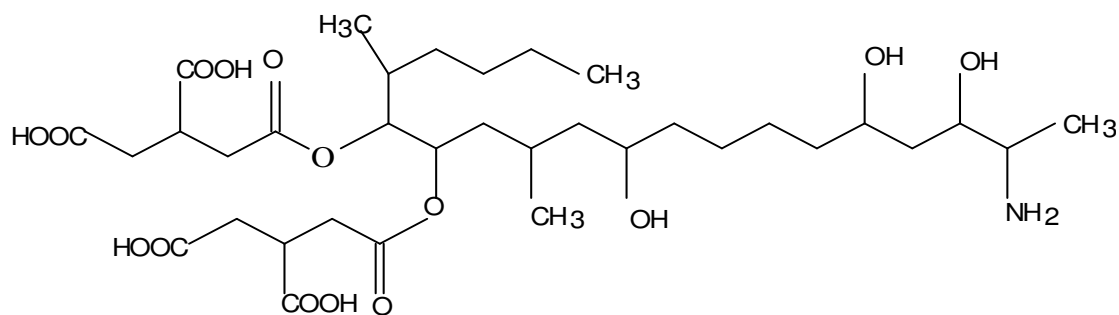
Embora originalmente as fumonisinas tenham sido isoladas a partir de culturas de *Fusarium verticillioides*, THEIL *et al.* (1992) verificaram que das 23 espécies de *Fusarium* somente o *F. verticillioides* (*F. moniliforme*), o *F. proliferatum* e o *F. nygamai* produziam essas micotoxinas.

A biossíntese da fumonisina pode ocorrer em ambientes com temperaturas entre 20 e 30° C, e em substratos com atividade de água de 0,85 a 1,0. É consenso que as fumonisinas mais tóxicas são as denominadas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>. Levantamentos feitos em várias regiões do mundo demonstram que o milho usualmente é contaminado por essa micotoxina (SCUSSEL, 2000; DINIZ, 2002).

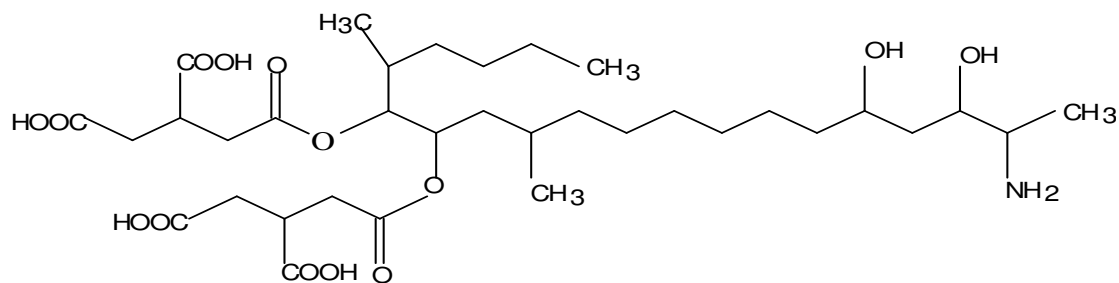
Na Figura 12 pode-se observar as funções químicas de cada micotoxina, sua composição, bem como os radicais que diferenciam os tipos de fumonisinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, e B<sub>3</sub>.

FIGURA 12 – ESTRUTURA MOLECULAR DAS MICOTOXINAS FUMONISINAS B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, e B<sub>3</sub>

continua



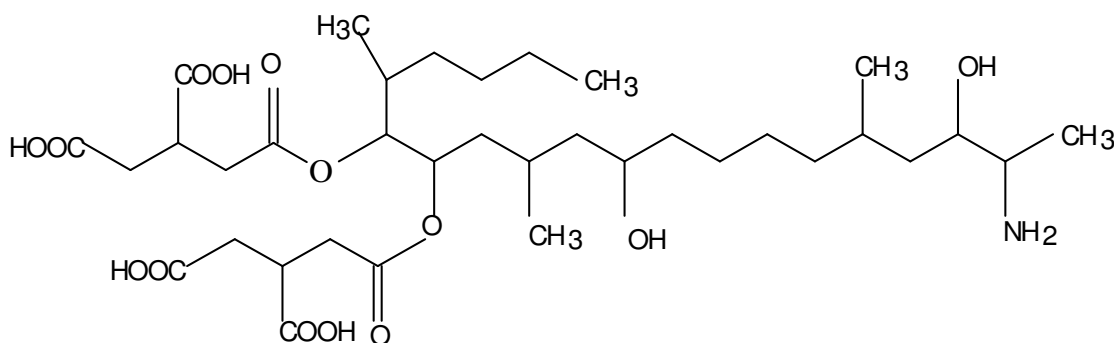
FUMONISINAS B<sub>1</sub>



FUMONISINAS B<sub>2</sub>

FIGURA 12 – ESTRUTURA MOLECULAR DAS MICOTOXINAS FUMONISINAS B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, e B<sub>3</sub>

conclusão

FUMONISINAS B<sub>3</sub>

Já a zearalenona é uma das micotoxinas produzida pelo gênero *Fusarium*, principalmente *Fusarium graminearum*, em condições caracterizadas por alta umidade e baixas temperaturas. Possui efeito estrogênico (hiperestrogenismo) principalmente em suínos, resultando em edema, prolapso de vulva, aborto e crescimento de mamas nos machos.

É uma substância derivada do ácido resorcílico. Sendo um estrogênio fúngico, produzido juntamente com o deoxinivalenol e demais tricotecenos, além da moniliformina e o butenolideno segregado por espécies de *Fusarium* que colonizam diferentes vegetais de significativa importância econômica; sendo responsável por numerosas micotoxicoses em animais, especialmente em suínos (PFOHL-LESZKOWICZ *et al.*, 1995; SCUSSEL, 1998; DINIZ, 2002).

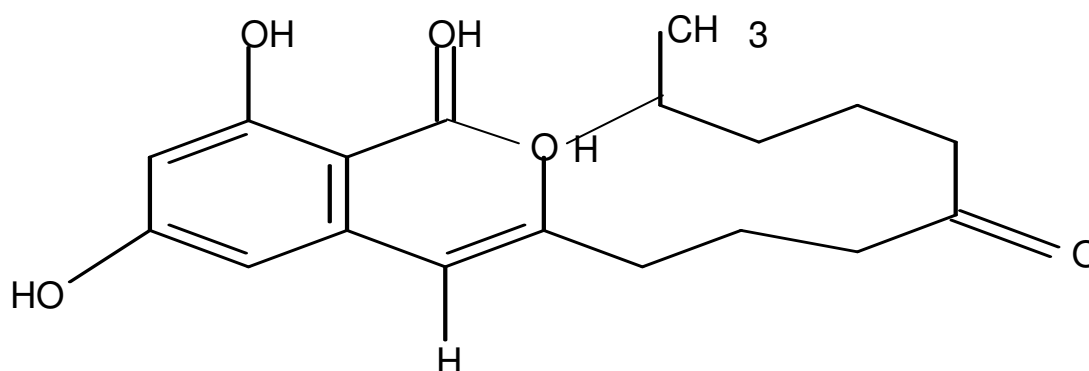
A zearalenona se faz presente nos cereais, com destaque para o milho, além do trigo, do sorgo, da cevada e do café cru.

Em humanos a zearalenona, não apresenta perigo imediato para a saúde, embora deva ser lembrado que a micotoxina é largamente distribuída em tecidos animais e vegetal.



Na Figura 13 pode-se observar as funções químicas da micotoxina, sua composição, bem como os radicais que a compõem.

FIGURA 13 – ESTRUTURA MOLECULAR DA MICOTOXINA ZEARALENONA



Os principais efeitos provenientes da contaminação micotoxicológica no homem e nos animais são:

#### *Efeitos Carcinogênicos*

São os efeitos que podem vir a desenvolver câncer em diversos órgãos de animais e do próprio homem.

A Comissão do “*Environmental Health Criteria for Mycotoxins*” da OMS considera em termos de exposição ocupacional a micotoxinas, dois grupos potencialmente de risco (OMS, 2004):

- \* Aqueles que manuseiam grãos, rações animais, amendoim, etc., onde a contaminação pode ocorrer através do ar contaminado;

- \* Aqueles que trabalham com toxinas, nas experiências científicas ou puras, usadas como padrões analíticos.

### *Efeito Teratogênico*

Consiste na má formação do feto e reabsorção de embriões.

### *Atividade Mutagênica*

Causa mutação no *Bacillus subtilis*.

### *Aberrações Cromossomais*

Produz aberrações cromossomais em leucócitos e células de raiz *Vicia faba*.

### *Imunoreatividade*

Reduz a resistência a infecções.

Suprime a formação de anticorpos e de outros fatores humorais responsáveis pela resistência (causa imunossupressão). A imunossupressão é chamada também de apoptose que é a morte *programada* de uma população celular. Difere da morte por necrose por ser silenciosamente caracterizada pelo encarquilhamento do núcleo (*picnose*), ou sua fragmentação (*cariorexis*), alteração da permeabilidade da membrana plasmática a corantes não vitais e vitais, e dissolução citoplasmática lenta, sem os fenômenos abruptos que caracterizam a lise celular.

Como a legislação brasileira existe somente para aflatoxinas, os Quadros 3, 4 e 5 evidenciam a legislação vigente dos principais países produtores, consumidores, importadores ou exportadores de grãos a respeito das micotoxinas.

QUADRO 3 – NÍVEIS PERMITIDOS PARA AFLATOXINAS EM ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO continua

PAÍS	TIPO DE REGULAMENTO	NÍVEL MÁXIMO (µg/kg)***	ALIMENTO
EUA	FDA / USDA	20 ( T )	Todos os alimentos
CHINA	MA	20 ( A )	Grãos e Fermentados
BRASIL	MS / MA	20 ( D ) / 20 ( T )	Todos os alimentos
MÉXICO	MA	20 ( T )	Todos os alimentos
JAPÃO	MA	10 ( A )	Todos os alimentos
CORÉIA DO SUL	MA	10 ( T )	Todos os alimentos
ESPANHA	MA	10 ( T ) / 5 ( A )	Todos os alimentos
ARGENTINA	MA	20 ( T ) / 5 ( A )	Amendoim e milho
ÁFRICA DO SUL	MS/ MA	10 ( T ) / 5 ( A )	Todos os alimentos
POLÔNIA	MA	20 ( T )	Amendoim e milho
SINGAPURA	MS/ MA	0	Todos os alimentos
UK	MA	10 ( T )	Nozes e derivados
ALEMANHA	MS / MA	4 ( T ) / 2 ( A )	Todos os alimentos
ITÁLIA	MA	10 ( T ) / 5 ( A )	Todos os alimentos
FRANÇA	MS / MA	10 ( A )	Todos os alimentos
CANADÁ	MA	15 ( T )	Nozes e derivados
SUÉCIA	MS / MA	5 ( T )	Todos os alimentos

FONTE: MS/CNNPA, 2004; MA/MAARA, 2004; FAO, 2004.

NOTA: \*\*\*códigos: T = total de aflatoxinas; D = B1 + G1; A = B1; MA = Ministério da Agricultura;  
MS = Ministério da Saúde

QUADRO 4 – NÍVEIS PERMITIDOS PARA AFLATOXINAS EM ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO – ORGANIZAÇÕES ECONOMICAS

PAÍS	NÍVEL MÁXIMO (µg/kg)***	ALIMENTO
EUA	20	Todos os alimentos
CANADÁ	15	Nozes e derivados
MÉXICO	20	Todos os alimentos
MERCOSUL	20	Milho, farelo e amendoim
UNIÃO EUROPÉIA	20	Todos os alimentos

FONTE: FAO, 2004.

NOTA: \*\*\* Total de aflatoxinas.

QUADRO 5 – NÍVEIS PERMITIDOS PARA AFLATOXINAS EM ALIMENTOS PARA CONSUMO  
ANIMAL: MATÉRIAS-PRIMAS E RAÇÕES continua

PAÍS	TIPO DE REGULAMENTO	NÍVEL MÁXIMO (µg/kg)***	OBSERVAÇÕES
EUA	USDA	10 ( T )	Matéria-prima e ração
CHINA	MA	10 / 20 / 50 ( A )	Frangos / suínos / ração
BRASIL	MA/SNAD/SFA	30 ( T )	Matéria-prima e ração
MÉXICO	MA	200 ( T ) / 0 ( T )	Suínos / bovinos e aves
JAPÃO	MA	1000 ( A )	Ração
PORTUGAL	MA	20 ( A )	Ração
ESPANHA	MA	10 ( T )	Ração
ARGENTINA	MA	20 ( T ) / 30 ( A )	Ração / Farelo de soja
ÁFRICA DO SUL	MA	10 ( T )	Ração
POLÔNIA	MA	20 ( T )	Ração
SINGAPURA	MA	0	Ração
UK	MA	30 ( T )	Ração
ALEMANHA	MA	0,05 ( T )	Ração
ITÁLIA	MA	40 ( T ) / 20 ( A )	Ração
FRANÇA	MA	10 ( A )	Ração
CANADÁ	MA	20 ( T )	Ração
SUÉCIA	MA	10 ( T )	Ração

FONTE: MS/CNNPA,2004; MA/MAARA,2004; FAO, 2004.

NOTA: \*\*\*códigos: T = total de aflatoxinas; D = B1 + G1; A = B1; MA = Ministério da Agricultura;  
MS = Ministério da Saúde

## CAPÍTULO 3: MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 AMOSTRAGEM

As amostras de milho e soja foram adquiridas diretamente dos produtores da região Centro-Sul do Estado do Paraná, pertencentes à safra 2003/2004, constituindo o milho híbrido (simples AG 6018) e o milho Bt, enquanto que a soja convencional (CD 201) e a soja RR. As sementes geneticamente modificadas não estão identificadas por estarem em intervenção judicial.

As amostras foram coletadas com calador e de acordo com o tamanho do local de armazenamento, dividido em 10 m<sup>2</sup> para retirada dos pontos (CLASPAR, 2004).

As mesmas foram codificadas de acordo com o tempo de armazenamento, sendo tempo zero, 30 e 60 dias; com 30 amostras cada, três repetições, totalizando 90 amostras e as análises em triplicatas.

Uma ficha de amostragem foi preenchida, identificando a origem da semente, data de plantio, data de colheita e data de entrada no armazém, bem como quantidade e tipo de fungicida utilizado.

Na contaminação artificial utilizou-se uma amostra de cinco quilos de milho e soja com coleta imediata e embalada em saco multifoliado, com a terceira folha com filme de polipropileno.

As amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em plásticos de 500g para as análises microbiológicas e micotoxicológicas e potes de 30g em duplicata para as análises físico-químicas.

### 3.2 MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS

#### 3.2.1 Análise de Teor de Umidade

O método utilizado foi o recomendado pela *American Oil Chemists Society* (AOCS, 1985), empregando estufa a vácuo (*FABBE-PRIMAR*, modelo 221).

Para as análises do teor de umidade, cinco gramas de grãos de milho e soja foram acondicionados em pesa-filtro de alumínio com tampa, de 50mm de diâmetro por 30 mm de altura, a 115º C por 6 horas.

### 3.2.2 Análise de Teor de Atividade de Água

A determinação do teor de atividade de água seguiu o método regulamentado pelo Departamento de Boas Práticas de Fabricação do *Food and Drugs Administration - FDA* dos Estados Unidos, sob o código federal de análise 21CFR110 (DECAGON DEVICES INC, 2001).

No detector de atividade de água (*AQUALAB CX-2*) foram acondicionadas as amostras de milho e soja em cápsulas plásticas do próprio equipamento para leitura, em sala com atmosfera controlada a 23º C. A resposta da leitura ocorreu no período de tempo de 2 a 4 minutos e temperatura de 22º C.

### 3.2.3 Análise de Teor de Cinzas

Os teores de cinzas nas amostras de milho e soja foram analisados seguindo POMERANZ (1982) e JOSLYN (1970), que vem de acordo com a AOAC International (2000).

As amostras moídas a 20mesh, foram acondicionados em quantidade de cinco gramas em cápsulas de porcelana e submetidas a 550º C por seis horas.

## 3.3 MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS

### 3.3.1 Contagem Total de Bactérias Mesófilas (TPC)

A metodologia empregada para a análise de contagem total de bactérias aeróbias ou facultativas e mesófilas presentes nas amostras de milho e soja é a da AOAC International, método 46.031 e *APHA Methods*, 4.52 (AOAC, 2000, APHA, 2001).

O meio de cultura utilizado foi o PCA – Ágar Padrão para Contagem, pH 7,0; as diluições das amostras foram acondicionadas em placas de Petri, incubadas em posição invertida à temperatura de 35,5° C por 48 horas.

### 3.3.2 Análise de Bolores e Leveduras (Y-MSC)

A metodologia empregada para a análise de bolores e leveduras nas amostras de milho e soja é a da AOAC International, método 995.21 (AOAC, 2000).

O meio utilizado foi o PDA - Ágar Batata Dextrose acidificado com ácido tartárico 10%, pH 3,5, as diluições das amostras foram acondicionadas em placas de Petri, incubadas em posição invertida à temperatura de 24° C por cinco dias, obtendo a primeira leitura em 48 horas.

### 3.3.3 Análise de Coliformes Fecais / *Escherichia coli* (NMPCF/Ec)

A análise de Coliformes Fecais / *Escherichia coli* nas amostras de milho e soja foi realizada pela metodologia da AOAC International, método 983.25 (AOAC, 2000).

As amostras foram analisadas em teste presuntivo, coliformes fecais e *E. coli*. Para o teste presuntivo utilizou-se o caldo LST – Caldo Lauril Sulfato Triptose, pH 6,9, as diluições das amostras foram transferidas para tubos de ensaio com tampa de rosca com tubos de Durham invertidos, incubados em banho-maria à temperatura de 44,5° C por 24 horas. Como não apareceram tubos positivos com a fermentação da lactose pelos coliformes com produção de ácidos e gás no tubo de Durham não foi necessária à seqüência das análises para coliformes fecais/ *E. coli*.

### 3.3.4 Análise de *Salmonella* (SALL)

A metodologia empregada para a análise de *Salmonella* spp nas amostras de milho e soja é a da AOAC International, método 978.24 (AOAC, 2000).

O meio de cultura utilizado foi o SS Agar (Ágar *Salmonella-Shigella*), pH 7,1. As amostras foram submetidas a um pré-enriquecimento com água peptonada tamponada (pH 7,2), incubadas à temperatura de 35,5° C por 24 horas. Em seguida ocorreu o planeamento com alça de platina em placas de Petri com meio de cultura SS Agar, incubadas à temperatura de 35,5° C por 24 horas, como não houve crescimento bacteriano, não foi necessária a triagem e nem as provas bioquímicas.

### 3.3.5 Análise de Fungos Toxigênicos (FUNGITox)

A metodologia empregada para a análise de fungos toxigênicos para *Aspergillus* spp. nas amostras de milho e soja é a da Fundação André Tosello (FAT) e do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), adaptada da AOAC International- IUPAC, método 2002.11(AOAC, 2000; TANIWAKI; SILVA, 2001).

O meio de cultura utilizado foi o MEA – Ágar Extrato de Malte, pH 4,7, as diluições das amostras foram incubadas em placas de Petri à temperatura de 24° C obtendo leituras à 42 h(inicial), 72 h, 120 h, 168 h, 192 h e 240 h(final).

## 3.4 MÉTODOS MICOTOXICOLÓGICOS

As análises de aflatoxinas, fumonisinas e zearalenona utilizaram-se os kits de imunoensaios da VICAM para a análise direta quantitativa. A metodologia empregada foi a do fabricante (VICAM, 2004).

Na preparação das amostras foi utilizado o método 977.16 da AOAC International – IUPAC com uma moagem das amostras em 20 mesh (AOAC, 2000).



### 3.4.1 Análise de Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> (*Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*)

A metodologia empregada para a análise de aflatoxinas nas amostras de milho e soja é a da AOAC International, método 977.16 e 991.31(AOAC, 2000).

As amostras foram submetidas à extração com solução aquosa de metanol (7:3), resultados positivos em imunoensaios com solução de bromina 0,002% (método SFB) por fluorescência. Transferidas as amostras para análise de cromatografia em camada delgada (TLC), placa de sílica-gel: 10x20cm; volume de amostra: 20µL, distância de migração 12-15cm; volume do solvente (acetona: clorofórmio): 100ml, tempo de corrida: 30-42min. O padrão segue as concentrações (µg/ml): B1 = 6,07; B2 = 5,98; G1 = 6,25 e G2 = 5,80. O limite de detecção foi de 1,0ppb. Leitura das placas em comprimento de onda de 265nm.

### 3.4.2 Análise de Fumonisin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> (*Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nuremberg e *Fusarium subglutinans*)

A metodologia empregada para a análise de fumonisinas nas amostras de milho e soja é a indicada e adaptada na AOAC International, método 977.16 e 995.15 (AOAC, 2000).

As amostras foram submetidas à extração com solução metanol:água (3:1), resultados positivos em imunoensaios com solução de OPA (o-fitaldialdeído) por fluorescência. Transferidas as amostras para análise de cromatografia em camada delgada (TLC), solução de aquosa de metanol (3:1), placa de sílica-gel: 10x20 cm; volume de amostra: 10 µL, distância de migração 12-15 cm; volume do solvente (ácido acético-metanol): 100ml, tempo de corrida: 35-60min. O padrão possui a concentração da somatória de B1, B2 e B3 de 250 µg/mL em solução aquosa de acetonitrila (1:1). O limite de detecção foi de 0,25 ppm. Leitura das placas em comprimento de onda de 350 nm.

### 3.4.3 Análise de Zearalenona (*Fusarium graminearum*)

A análise de zearalenona nas amostras de milho e soja foi realizada pela metodologia indicada e adaptada na AOAC International, método 976.22 e 994.01 (AOAC, 2000).

As amostras foram submetidas à extração com solução aquosa de metanol 70%, resultados positivos em imunoensaios com solução de tetrametilbenzidina. Transferidas as amostras para análise de cromatografia em camada delgada (TLC), solução alcoólica de clorofórmio (5:95), placa de sílica-gel: 10x20 cm; volume de amostra: 10 µL, distância de migração 12-15 cm; volume do solvente (acetona: benzeno): 100 ml, tempo de corrida: 40-50min. O padrão possui uma concentração de 6,0 µg/mL em benzeno. O limite de detecção foi de 0,10 ppm. Leitura das placas em comprimento de onda de 365 nm com borrifo de solução alcoólica de cloreto de alumínio 20%.

## 3.5 CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL COM *Aspergillus flavus* ATCC 9643, CCT 3125

A contaminação artificial foi efetuada em cinco etapas: a coleta de amostras (grãos de milho e soja), o armazenamento, a preparação, a contaminação e a análise propriamente dita.

### 3.5.1 Amostragem

A amostragem foi de cinco quilogramas de milho e soja, acondicionadas em saco de papel multifoliado, com a terceira folha com uma camada de polipropileno.

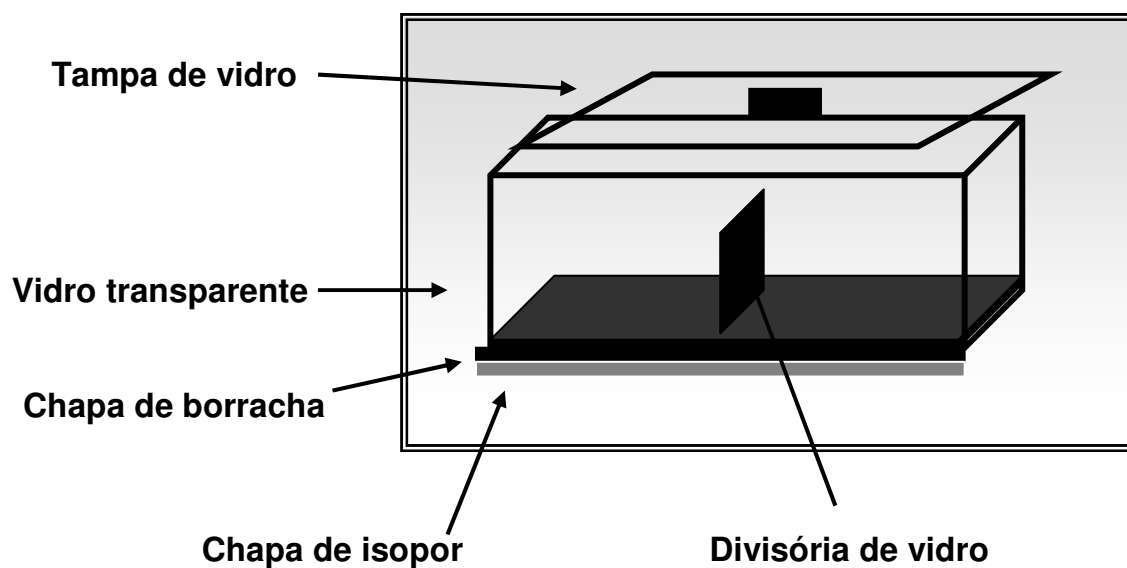
### 3.5.2 Armazenamento

Para o armazenamento dos grãos de milho e soja foi construída uma cuba de vidro nas medidas de 40x20x25 cm; 2 mm; 20 cm.

A cuba foi colocada sobre um suporte de borracha e chapa de isopor isolando termicamente da superfície da bancada de análise (Figuras 14 e 15).

As amostras foram analisadas no período de 40 dias, visto que a média de armazenamento do milho nos armazéns e nas cooperativas vão de quatro a vinte seis dias, antes da industrialização e venda, dependendo do escoamento na época da colheita.

FIGURA 14 - ESQUEMA DA CUBA CONSTRUÍDA PARA ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL



FONTE: CANÇADO, 2004.

FIGURA 15 - CUBA CONSTRUÍDA PARA ARMAZENAMENTO DE MILHO E SOJA PARA ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL



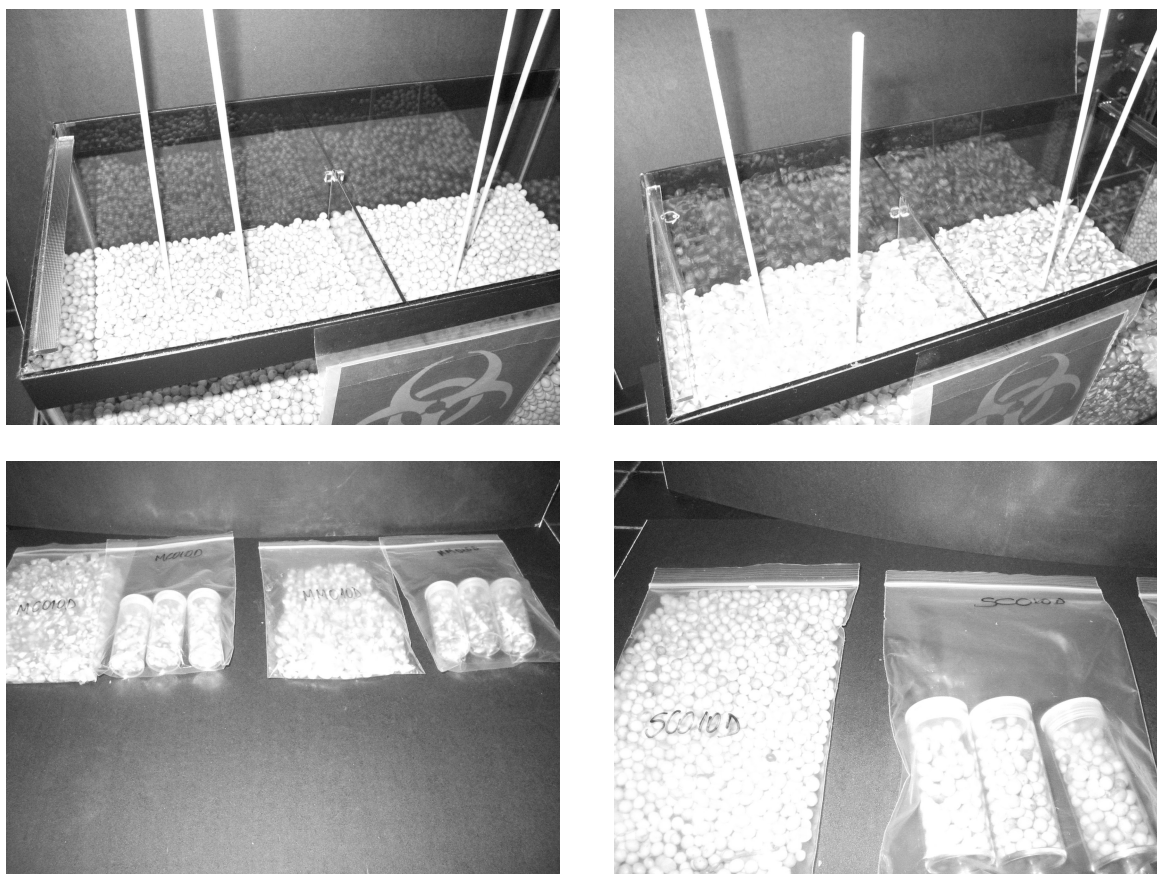
FONTE: CANÇADO, 2004.

### 3.5.3 Preparação

Para colocar as amostras nos aquários, as mesmas foram preparadas para que houvesse uma facilidade e dado condições de crescimento fúngico e possível liberação de micotoxinas. Para isso, as amostras que estavam com uma umidade entre 13,8 e 14,0%, foram submetidas a um aumento no teor de umidade aproximadamente de 18,4%, com borrifamento de água destilada pura seguido de homogeneização (Figura 16).

Não foi utilizada proporção na água destilada de cloreto de sódio e a de glucose, porque são produtos que favorecem a redução da atividade de água dos alimentos. Esses solutos, mesmo que sejam adicionados em concentrações que resultem na mesma atividade de água, podem exercer um efeito adicional diferenciado sobre o crescimento dos fungos, inibindo o crescimento fúngico, segundo SCOTT (1957); ONISHI (1963); PITT e HOCKING (1977); SCUSSEL (1998); DINIZ (2002).

FIGURA 16 – PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL



FONTE: CANÇADO, 2004.

### 3.5.4 Contaminação Artificial das Amostras

As amostras foram contaminadas aproximadamente na proporção de  $10^4$  de esporos de *Aspergillus flavus* ATCC 9643, cedido pela Fundação André Tosello – Coleção de Culturas Tropical – CCT 3125 em meio de cultura MEA (*Malte Extract Agar*) em ampola com cultura liofilizada e em *slants* (tubos com solução líquida de cultura) em duplicata de cada um, conforme ofício FAT/CCT 0166/04 de 22 de março de 2004.

Foram utilizados os *slants* para a contaminação, incubando em placas de Petri com meio de cultura MEA 2% com peptona, a temperatura de 24° C, por um período de 72 horas, sendo que a primeira contagem foi feita após 48 horas. Após o crescimento, com um bastão de Drigalski raspou-se a superfície do meio de

cultura, utilizando duas lavagens com 20ml de água destilada esterilizada e transferida para um erlenmeyer de 50ml e em seguida contaminando os grãos de milho e soja no aquário construído, sob temperatura ambiente de 26° C.

### 3.5.5 Métodos de Análise

As análises foram realizadas com o tempo 0 dias sem contaminação e com o tempo 0, 10, 20, 30 e 40 dias com contaminação.

O teor de umidade, atividade de água, contagem de fungos toxigênicos (Fungitox) e teor de aflatoxinas foram analisados conforme metodologias descritas em itens anteriormente.

## 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis consideradas foram o teor de umidade; o teor de atividade de água, teor de cinzas, teor de contagem de fungos toxigênicos (Fungitox) e o teor de aflatoxinas esses dados foram obtidos nos grãos de milho e soja em ensaios experimentais onde utilizou um delineamento em blocos ao acaso com parcelas subdivididas,  $n = 90$  e com três repetições (KOEHLER, 1999; BARROS NETO *et al.* 2001; BEIGUELMAN, 2002; OGLIARI, POSSIK, 2002; PAGANO, GAUVREAU, 2004).

Para os cálculos estatísticos utilizou-se o Programa *MSTATC* da *Michigan State University* programado em sistema DOS para PC, além do Programa *STATISTICA 6.0* da *Stat Soft, Inc.* programado em sistema *Windows* para PC da *Microsoft Corporation* (MSU, 1989; STAT SOFT, 2004).

## CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

#### 4.1.1 Análise de Teor de Umidade em Grãos de Milho e Soja

Em relação à análise do teor de umidade, os grãos de milho (*Zea mays* Linné) e soja (*Glycine max* (Linné) Merrill) foram divididas em dois blocos, convencionais (C) e geneticamente modificadas (M) e ainda em três tempos (tempo zero, 30 e 60 dias de armazenamento), efetuadas em triplicatas, totalizando 180 amostras, 90 de cada tipo de semente (Anexo 1).

A Tabela 3 e os Anexos 2 e 14 apresentam a análise de milho, convencional (MC) e geneticamente modificado (MM); soja convencional (SC) e geneticamente modificada (SM) para o teor de umidade.

TABELA 3 – TEOR DE UMIDADE NO MC, MM, SC E SM

TIPO	N	TEOR DE UMIDADE (%)				
		mínimo (m)	máximo (M)	$\bar{X}$	SD	SE
MC	90	12,9	15,1	13,8	0,39	0,04
MM	90	12,9	14,6	13,8	0,42	0,04
SC	90	12,4	13,9	13,1	0,32	0,04
SM	90	12,8	14,3	13,5	0,41	0,04

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\bar{X}$  = média; SD = desvio-padrão; SE = erro-padrão.

A Tabela 3 mostra a análise de teor de umidade sendo que no milho não apresentou diferença estatisticamente significativa no nível de 5%; já na soja apresentou diferença significativa no nível de 5%, apresentando uma variação de umidade entre a SC e a SM. Os coeficientes de variação foram 2,95% e 2,76%, respectivamente e as amostras e o controle foram homogêneos ( $P>0,05$ ). As médias encontram-se nos limites estabelecidos pela legislação, bem como pelas agências brasileiras de comercialização de grãos. Algumas amostras de milho convencional e geneticamente modificado ultrapassaram o valor de 14,0%, valor que determina o Estado do Paraná (CLASPAR, 2004), já a FAO em sua resolução STAN 153-1985 (FAO, 1995), determina o valor máximo de 15,5% de teor de

umidade para o milho. O valor ideal para a umidade de cereais em seu armazenamento seria em torno de 11,0%, porém muitos agricultores não possuem uma viabilidade segura para diminuir o teor de umidade a este percentual, existem inúmeras pesquisas para viabilizar esta tentativa de diminuição de umidade para pequenos agricultores. Para a umidade em torno de 14,0% têm-se projetado inúmeros meios de controlar a infestação de insetos e contaminação microbiana; bem como a fermentação, já que este percentual é o indicado no mundo inteiro (FAO, 2004; USDA, 2004). A soja principalmente com umidade na faixa de 12,5 a 15,0% é preocupante devido à formação de gases que pode ocorrer se não houver uma vigilância e controle no interior de silos e armazéns; para que não haja perda de qualidade do grão.

A Tabela 4 apresenta os resultados referentes ao teor de umidade ao longo do tempo de armazenamento das amostras de grãos de MC, MM, SC e SM.

TABELA 4 –TEOR DE UMIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO NO MC, MM SC E SM

TIPO	N	BLOCOS					
		0	30	60	$\Sigma$	$\bar{X}$	$S^2$
MC	90	13,8	13,7	13,7	1239,4	13,8	0,155
MM	90	13,7	13,7	14,0	1244,0	13,8	0,177
SC	90	12,8	13,1	13,4	1179,6	13,1	0,155
SM	90	13,0	13,6	13,8	1216,5	13,5	0,177

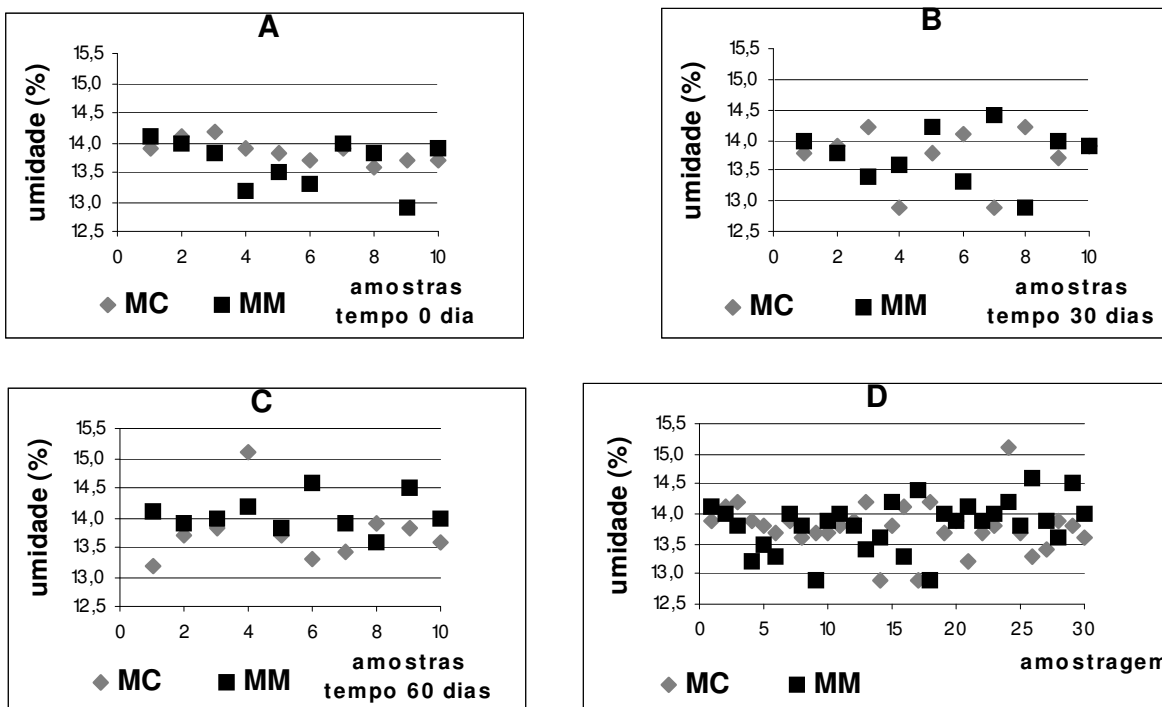
NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\Sigma$  = somatória;  $\bar{X}$  = média;  $S^2$  = quadrado do desvio-padrão= variância.

A Tabela 4 apresenta as médias e os desvios-padrão das amostras de grãos de milho e soja para o teor de umidade em função do tempo de armazenamento destacando a soja por apresentar a diferença significativa a 5% nos tempos 0, 30 e 60 dias, o que não ocorreu no milho.

Os Gráficos 3 e 4 apresentam os resultados da análise de teor de umidade nos grãos de milho e soja. No tempo 0 a tempo 30 dias, as amostras estão em fase de equilíbrio com o meio interno (armazenamento) e com o meio externo (ambiente), observa-se uma tendência em aproximar os valores de umidade, já no tempo 60 os valores não estão muito dispersos tendendo a uma homogeneidade.

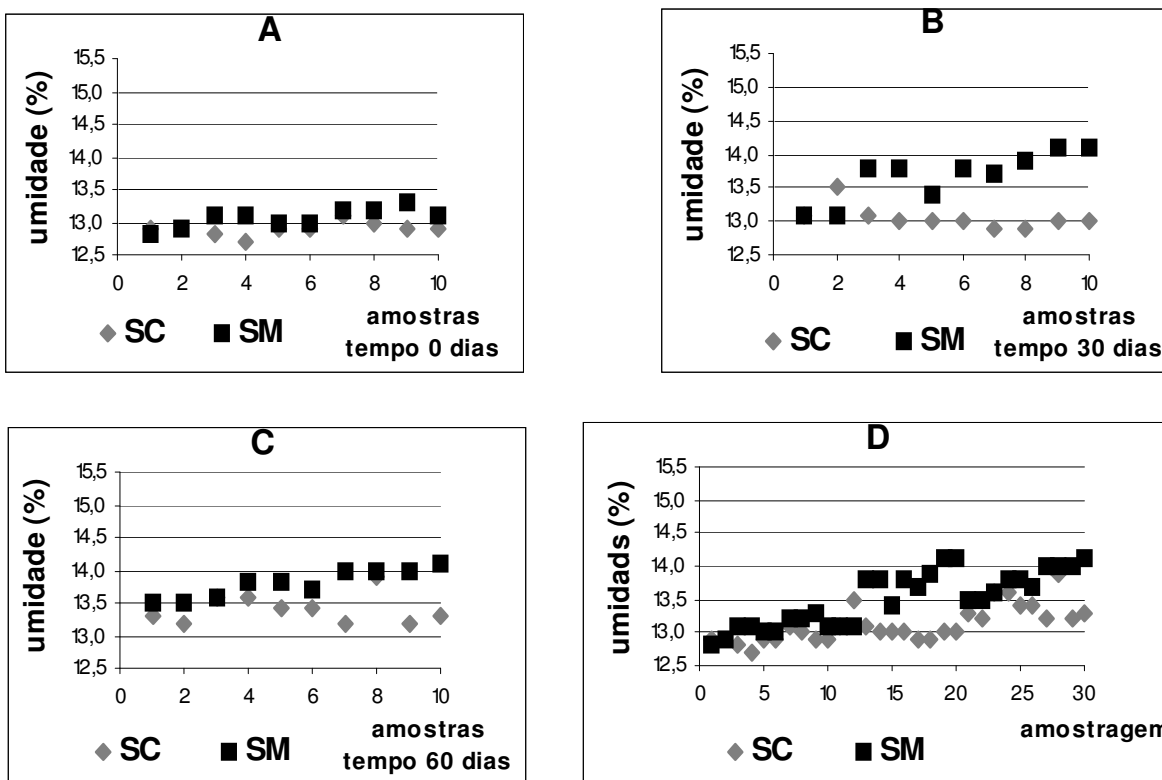


GRÁFICO 3 – TEOR DE UMIDADE DE MC E MM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

GRÁFICO 4 – TEOR DE UMIDADE DE SC E SM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

Nos gráficos 3 e 4 ainda pode-se notar a diferença no comportamento de teor de umidade entre o milho e a soja, visto pela composição diferenciada em relação ao teor de óleo no milho e na soja, sendo esta é uma das possibilidades; bem como o percentual de carboidratos em cada tipo de grão.

A condição “*sine qua non*” para submeter amostras a uma análise de variância (ANOVA) é a de que suas variâncias não variem significativamente, torna-se fundamental que, antes de tal análise, se faça um teste de homogeneidade das variâncias. O teste apropriado é o teste de Bartlett, o qual indica, mediante o teste de qui-quadrado, se existe ou não diferença estatisticamente significativa entre as variâncias das amostras analisadas.

No teste de Bartlett têm-se duas hipóteses, em que  $H_0$  as amostras são homogêneas e  $H_1$  as amostras não são homogêneas.

O resultado do teste de Bartlett para o milho mostra o qui-quadrado calculado de 0,395, logo, a hipótese  $H_0$  é verdadeira, visto que o qui-quadrado tabelado  $\chi^2$  é 3,841 que corresponde a 1GL, já que são dois tratamentos e no nível de 5% de probabilidade. Como não se encontra evidência de que a hipótese de nulidade seja falsa, conclui-se que as variâncias são homogêneas.

As Tabelas 5 e 6 apresentam a ANOVA dos teores de umidade dos grãos de milho e soja (Anexos 2,3, 4 e 15).

TABELA 5 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE AO TEOR DE UMIDADE NO MC E MM

Fonte de variância (FV)	Graus de liberdade (GL)	Soma dos quadrados (SQ)	Quadrado médio (QM)	F <sub>observado</sub>	F <sub>requerido</sub>	
					5%	1%
Tratamentos	1	0,118	0,118	0,708 <sup>ns</sup>	3,841	6,635
Erro experimental	178	29,540	0,166			
Total	179	29,658				

NOTA: ns= não significativo; \* = significativo no nível de 5% de probabilidade; \*\* significativo no nível de 1% de probabilidade.

TABELA 6 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE AO TEOR DE UMIDADE DA SC E SM

Fonte de variância (FV)	Graus de liberdade (GL)	Soma dos quadrados (SQ)	Quadrado médio (QM)	F <sub>observado</sub>	F <sub>requerido</sub>	
					5%	1%
Tratamentos	1	7,565	7,565	56,195**	3,841	6,635
Erro experimental	178	23,961	0,135			
Total	179	31,526				

NOTA: ns= não significativo; \* = significativo no nível de 5% de probabilidade; \*\* significativo no nível de 1% de probabilidade.

O valor de F requerido para 1 e 178GL, GL de tratamentos e do erro, respectivamente, para  $\alpha = 0,05$  é 3,841; como o valor de F observado as amostras do milho é igual a 0,708, consideravelmente menor que o valor de F requerido para um nível de 5% de significância, a hipótese  $H_0$  é aceita e conclui-se que não existe uma média dos tratamentos diferente. Já para a soja, o valor de F observado é igual a 56,195, consideravelmente maior que o valor de F requerido para um nível de 5% de significância, a hipótese  $H_1$  é aceita e conclui-se que existe uma média dos tratamentos diferente.

Como a análise está objetivada nos dois tipos de sementes, sendo o mesmo tipo de cultivo não há a necessidade do teste de Tukey ou de Duncan, onde mostrou por análise de Bartlett e ANOVA a diferença no nível de 5% ( $P < 0,05$ ).

O que se deve analisar se esta diferença traria algum tipo de efeito para o armazenamento ou para a contaminação microbiológica ou micotoxicológica dos grãos. Para esta hipótese, de haver ou não efeito, deve-se analisar o teor de umidade em conjunto com o teor de atividade de água dos grãos.

#### 4.1.2 Análise de Teor de Atividade de Água em Grãos de Milho e Soja

A água presente nos alimentos confere características como textura, consistência, viscosidade e tempo de vida do mesmo.

A presença de água nos produtos químicos ou biológicos ocorre como atividade de água e água ligada, resultando em conteúdo total de água (teor de umidade).

A velocidade das reações químicas desejáveis ou não, dependem da mobilidade e concentração dos compostos e enzimas envolvidas, que são conferidas pela quantidade de atividade de água ( $A_w$ ).

Quando não existe água disponível, a medida de atividade de água será igual à  $A_w = 0,000$ ; porém, se a amostra é constituída em sua totalidade por água

pura, então,  $A_w = 1,000$ . Portanto, as medições de  $A_w$  dos diversos produtos estão sempre compreendidas entre 0,000 e 1,000.

A Tabela 7 mostra os resultados da análise de teor de atividade de água do MC, MM, SC e SM, bem como a Tabela 8 apresenta os resultados referentes ao teor de atividade de água ao longo do tempo de armazenamento das amostras de MC, MM, SC e SM.

TABELA 7 –TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA NO MC, MM, SC E SM

TIPO	N	$A_w$				
		m	M	$\bar{X}$	SD	SE
MC	90	0,714	0,743	0,724	0,008	0,001
MM	90	0,746	0,791	0,764	0,013	0,001
SC	90	0,633	0,719	0,699	0,020	0,000
SM	90	0,708	0,721	0,713	0,000	0,000

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\bar{X}$  = média; SD = desvio-padrão; SE = erro-padrão.

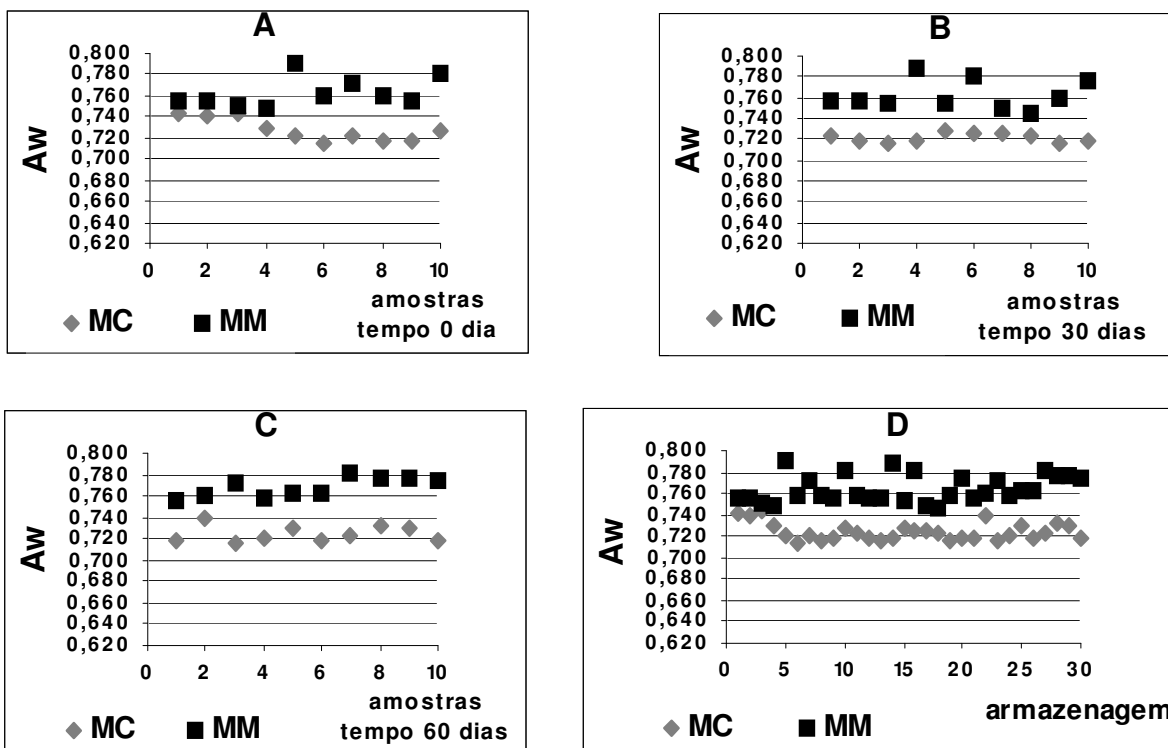
TABELA 8 –TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO NO MC, MM, SC E SM

TIPO	N	BLOCOS					
		0	30	60	$\Sigma$	$\bar{X}$	$S^2$
MC	90	0,728	0,721	0,725	65,200	0,724	0,000
MM	90	0,763	0,761	0,768	68,763	0,764	0,000
SC	90	0,702	0,688	0,706	62,884	0,699	0,000
SM	90	0,712	0,713	0,714	64,189	0,713	0,000

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\Sigma$  = somatória;  $\bar{X}$  = média;  $S^2$  = quadrado do desvio-padrão= variância.

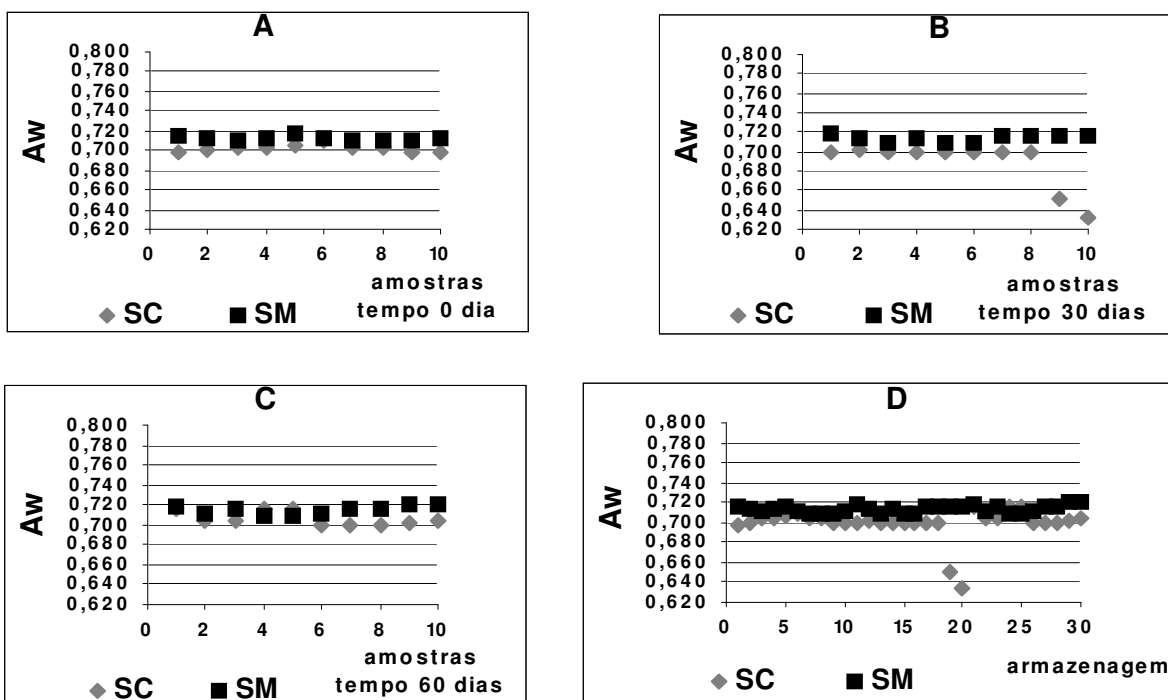
Os resultados das tabelas 7 e 8 mostraram que tanto no MC e MM como na SC e SM existe uma diferença em relação das médias de  $A_w$ , porém mais acentuada entre o MC e o MM. As diferenças existentes nos teores de atividade de água no milho e na soja em relação ao tipo de semente, somente ocorrem no tempo de armazenamento para os grãos de soja, já nos grãos de milho tende ao equilíbrio seguindo a mesma característica ocorrida no teor de umidade. Isto pode-se verificar nos Gráficos 5 e 6 que apresentam os resultados da análise do teor de atividade de água nos grãos de milho e soja.

GRÁFICO 5 – TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA NO MC E MM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

GRÁFICO 6 – TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA NA SC E SM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

Os Gráficos 5 e 6 apresentam a diferença existente entre nos valores de atividade de água do MC e MM, bem como da SC e SM, porém na soja verifica-se um equilíbrio no tempo 30 dias e no tempo 60 dias volta a ter dispersão nos valores existentes no tempo 0, provavelmente esta característica esteja ligada ao fato de que no tempo de 40 a 60 dias houve mudanças de intempéries no ambiente externo, mudança de clima e chuva. Vale ressaltar que o MC, o teor de atividade de água possui um equilíbrio maior que o do MM, mostrando que poderá haver um controle da  $A_w$  por meio do teor de umidade. A absorção de umidade nos grãos de milho e soja possui característica equivalente, existe uma troca entre o meio interno e o meio externo onde os grãos estão armazenados, conseqüentemente esta troca interferirá nos valores de teor de atividade de água dos grãos, com uma maior sensibilidade para o milho.

As Tabelas 9 e 10 apresentam a ANOVA nos grãos de milho e soja para o teor de atividade de água.

TABELA 9 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE AO TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA NO MC E MM

FV	GL	SQ	QM	F <sub>o</sub>	F <sub>r</sub>	
					5%	1%
Tratamentos	1	0,071	0,071	629,234*	3,841	6,635
Erro experimental	178	0,020	0,000			
Total	179	0,090				

NOTA: \* = significativo no nível de 5% de probabilidade; \*\* significativo no nível de 1% de probabilidade.

TABELA 10 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE AO TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA NA SC E SM

FV	GL	SQ	QM	F <sub>o</sub>	F <sub>r</sub>	
					5%	1%
Tratamentos	1	0,009	0,009	67,396**	3,841	6,635
Erro experimental	178	0,025	0,000			
Total	179	0,090				

NOTA: \* = significativo no nível de 5% de probabilidade; \*\* significativo no nível de 1% de probabilidade.

Os valores de F observado tanto no milho como na soja foram altos, apesar da existência de homogeneidade das amostras, este fato está ligado na variação existente entre as amostras apresentadas, além do fato que a atividade de água está diretamente ligada na facilidade de absorção de água dos grãos, neste caso

as sementes convencionais são mais sensíveis que as geneticamente modificadas.

#### 4.1.3 Análise de Teor de Cinzas em Grãos de Milho e Soja

A qualidade do alimento pode ser definida como um conjunto de características que tornam o produto agradável ao consumidor, nutritivo, isento de substâncias estranhas e saudáveis ao organismo. Para auxiliar no controle de qualidade, utilizam-se análises laboratoriais, no intuito de adequação da composição química e de características sensoriais.

Uma das análises de controle de qualidade que se pode expressar garantia de não possuir substâncias indesejáveis é o teor de cinzas de um alimento, também chamado de resíduo mineral fixo, visto que o teor de cinzas fornece a perda de peso, que nada mais é que o teor de matéria orgânica existente no produto, mostrando assim a adição de matérias inorgânicas ao alimento.

A Tabela 11 mostra os resultados obtidos na análise de teor de cinzas no MC e MM.

TABELA 11 – TEOR DE CINZAS NO MC, MM, SC E SM

TIPO	N	TEOR DE CINZAS (%)				
		m	M	$\bar{X}$	SD	SE
MC	90	3,5	5,3	4,5	0,571	0,060
MM	90	3,8	4,9	4,4	0,292	0,031
SC	90	3,8	5,3	4,5	0,48	0,05
SM	90	3,5	5,3	4,5	0,40	0,05

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\bar{X}$  = média; SD = desvio-padrão; SE = erro-padrão.

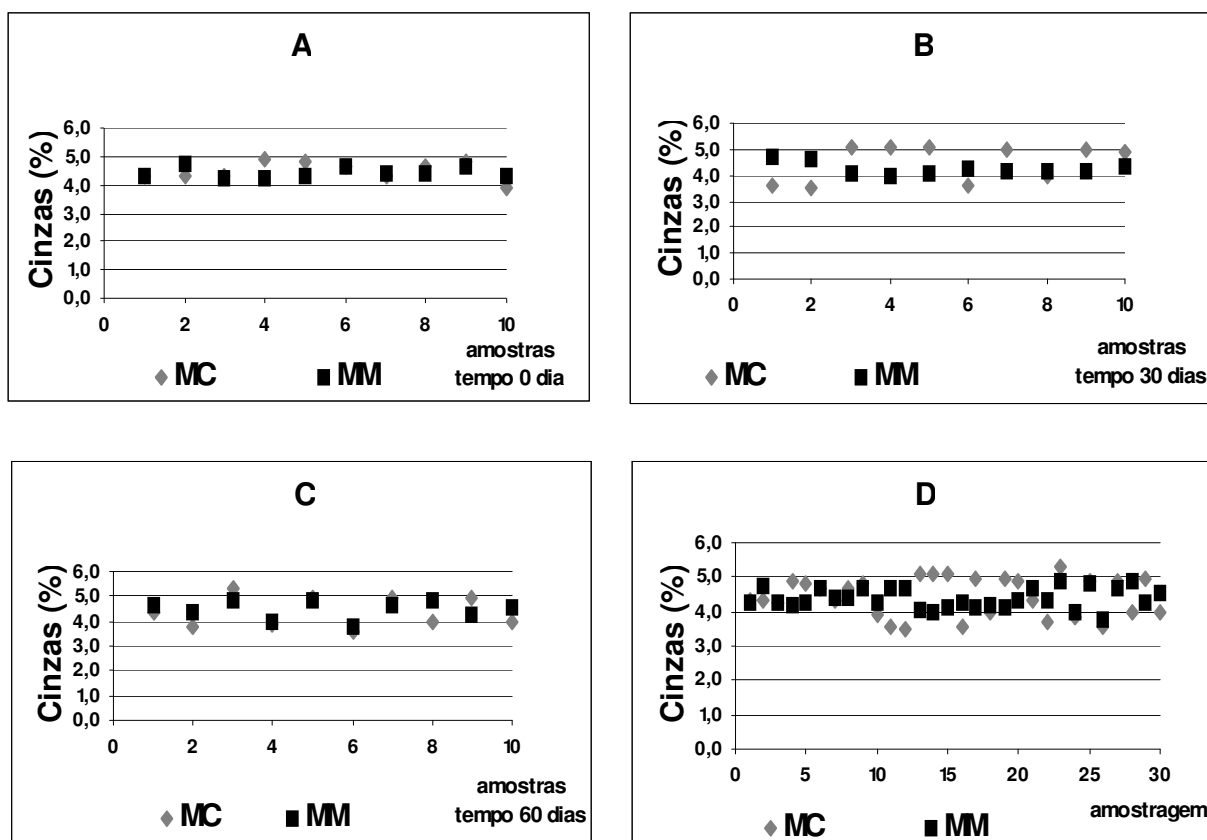
Os valores da média de teor de cinzas do MC, MM, SC e SM apresentam uma similaridade, para esta característica o milho e a soja são equivalentes,

mostrando que em relação aos resíduos minerais fixos não diferem significativamente, tanto que os resultados dos grãos de milho e soja para o teste de Bartlett foram homogêneos.

Os valores do F observado calculados no ANOVA dos grãos de milho e soja foram menor que o valor do F requerido mostrando que não existe diferença estatisticamente significativa no nível de 5% ( $P>0,05$ ) (exemplificado nos Anexos 8,9 e 10).

Os Gráficos 7 e 8 apresentam os resultados obtidos na análise de teor de cinzas no MC, MM, SC e SM.

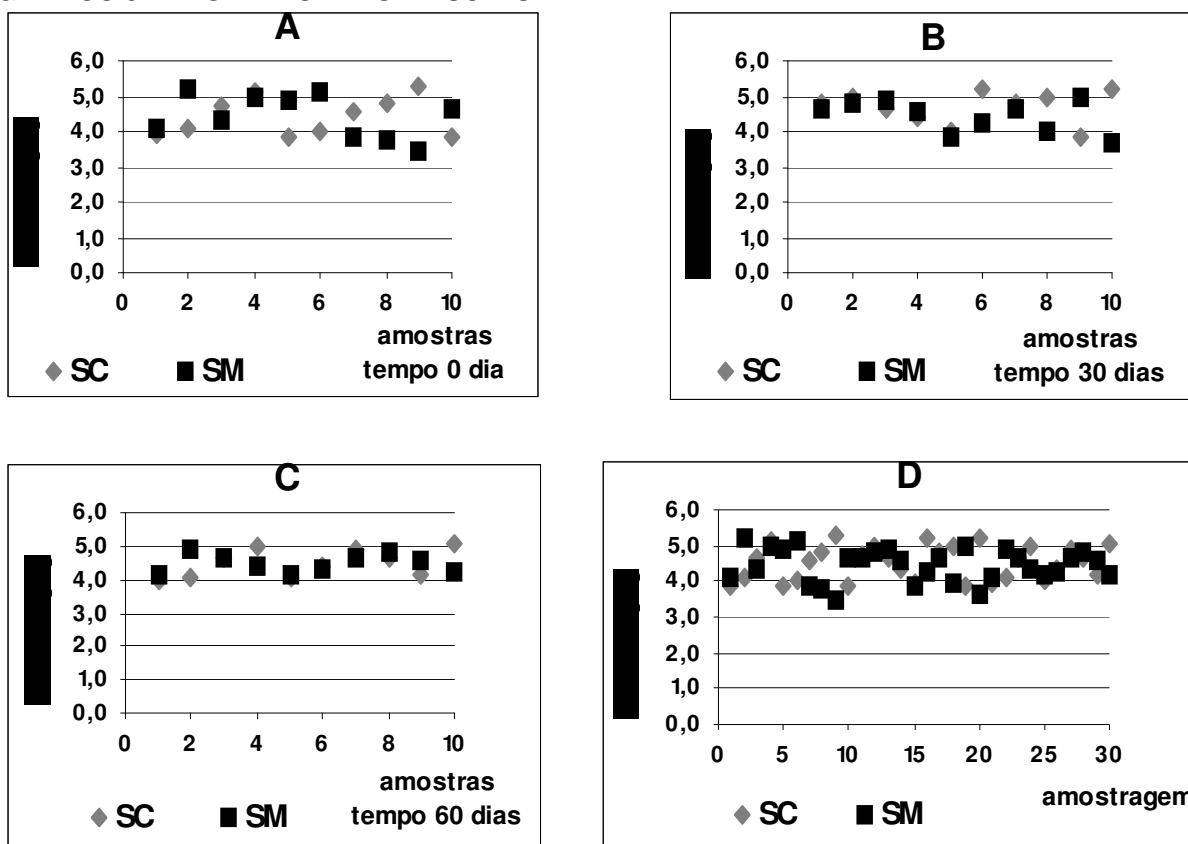
GRÁFICO 7 – TEOR DE CINZAS NO MC E MM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.



GRÁFICO 8 – TEOR DE CINZAS NA SC E SM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

Os Gráficos 7 e 8 apresentaram características muito semelhantes ao longo do tempo de armazenamento, as reações químicas e bioquímicas que podem ocorrer durante o armazenamento dos grãos, na forma de liberação de gases e energia (calor) não afetam a composição de minerais fixos existentes nas amostras, sejam elas convencionais ou geneticamente modificadas. O aumento ou diminuição de teor de umidade dos grãos não há confirmação de formação de complexos resistentes ao calor que possam vir apresentar uma toxicidade química.

## 4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

### 4.2.1 Contagem Total de Bactérias Mesófilas (TPC) em Grãos de Milho e Soja

A contagem total de bactérias (TPC) detecta nas sementes o número de bactérias aeróbias ou facultativas presentes tanto sob a forma vegetativa quanto a forma esporulada. Pode-se detectar também as anaeróbias estritas colocando uma camada de ágar 2% após a inoculação para que não haja absorção de oxigênio.

Esta análise é utilizada como indicador de qualidade de higiene nos produtos, podendo ainda fornecer a vida útil de conservação dos mesmos. A presença elevada de TPC pode indicar que não houve um adequado manuseio agrícola no cultivo das sementes, um manuseio ineficiente de equipamentos na colheita e um manuseio insatisfatório no armazenamento das sementes após a colheita.

A tabela 12 e os anexos 11e 16 mostram a análise de TPC no MC, MM, Sc e SM.

TABELA 12 – ANÁLISE DE TPC NO MC, MM, SC E SM

TIPO	N	TPC log (ufc/g)				
		m	M	$\bar{X}$	SD	SE
MC	90	3,150	3,750	3,578	0,100	0,011
MM	90	1,800	2,740	2,120	0,184	0,019
SC	90	2,480	3,730	3,327	0,270	0,030
SM	90	1,160	2,920	2,566	0,350	0,030

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\bar{X}$  = média; SD = desvio-padrão; SE = erro-padrão.

A Tabela 12 mostra a existência de diferença na contaminação dos grãos de milho e soja por TPC.

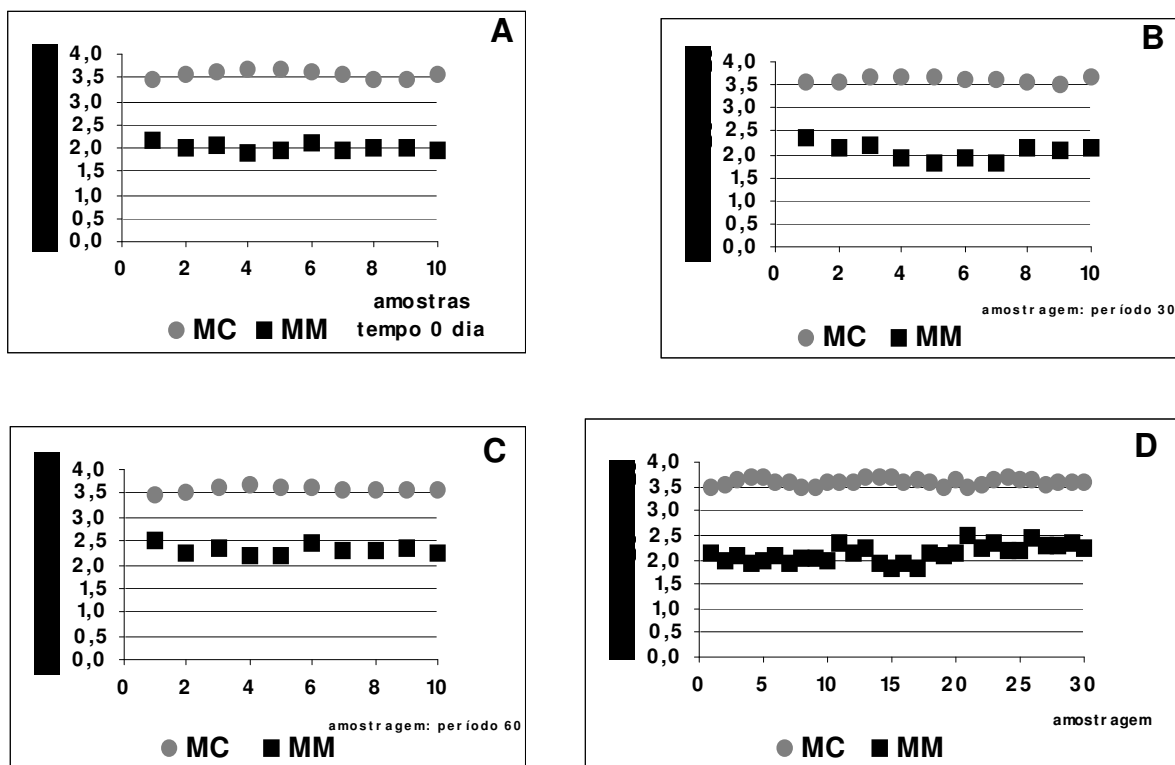
Os valores de F observado na ANOVA para o milho e a soja foram maior que o valor de F requerido para um nível de 5% de significância, existindo uma média dos tratamentos diferente. Logo, a TPC no MC e MM, bem como SC e SM diferem estatisticamente significativa no nível de 5% ( $P < 0,05$ ).

A contagem total de bactérias mesófilas detecta nos grãos o número de bactérias aeróbias ou facultativas presentes tanto sob a forma vegetativa quanto a forma esporulada. Tanto no milho como na soja houve a contaminação, porém nos grãos provenientes de semente geneticamente modificada foi menor. Em alguns estudos apresentaram uma contaminação entre 101 a 103 ufc/g, porém analisaram amostras entre 5 a 15 dias de armazenamento (PFÜLLER *et al.*, 2000; VIANA *et al.*, 2002).

O que se verifica na soja que há diferença de característica na película (casca) da semente convencional para com a semente geneticamente modificada, o que foi constatado visualmente que a película é mais densa e menos flexível na soja geneticamente modificada. Neste caso pode-se apresentar a hipótese de que na soja geneticamente modificada haverá uma menor incidência de ataques de insetos e pragas, e com isto, provavelmente terá uma contaminação menor por microrganismos; visto que algumas pesquisas verificaram que a contaminação microbiológica está diretamente relacionada ao número de ataques de insetos e pragas na lavoura (BELLAYER, 2001; GOLDFLUS, 2001; EMBRAPA, 2004a; EMBRAPA, 2004b; EMBRAPA 2004c).

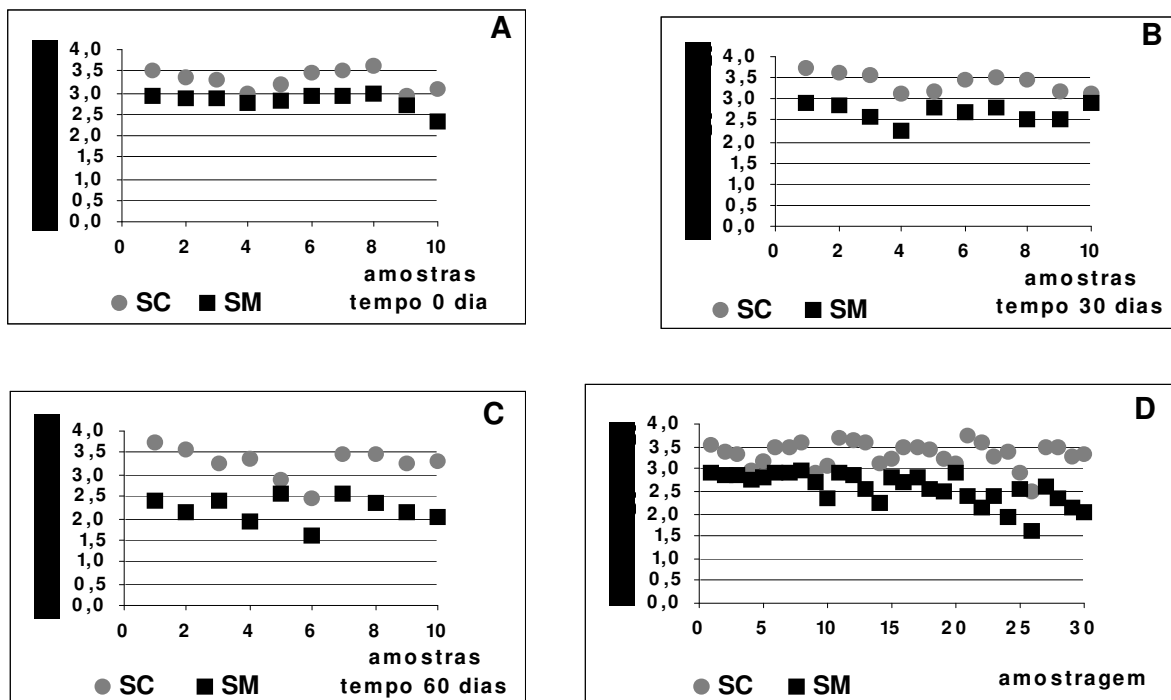
Os Gráficos 9 e 10 apresentam os resultados referentes a TPC ao longo do tempo de armazenamento das amostras de MC, MM, SC e SM.

GRÁFICO 9 – ANÁLISE DE TPC NO MC E MM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

GRÁFICO 10 – ANÁLISE DE TPC NA SC E SM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

O Gráfico 9 apresenta em seu tempo de armazenamento uma fase estacionária de crescimento, provavelmente as fases de latência (fase lag) e de crescimento exponencial (fase log) tenham ocorrido antes do armazenamento, isto pode ser favorável ao controle bacteriano do milho, visto que provavelmente o teor de umidade facilitará a entrada da fase de morte bacteriana. Já no caso da soja, o Gráfico 10 apresenta o final da fase estacionária entrando na fase de morte, mostrando que quando há um controle de umidade dos grãos, a contaminação é menor, favorecendo ainda mais a fase de morte da cinética de multiplicação bacteriana.

#### 4.2.2 Análise de Bolores e Leveduras (Y-MSC) em Grãos de Milho e Soja

A análise de fungos filamentosos (BOLORES) e fungos leveduriformes (LEVEDURAS) fornecem várias informações como: condições higiênicas precárias em equipamentos, cultivo com ataques de insetos e pragas, falhas na colheita com quebras de sementes, falta de padronização dos equipamentos de colheita, estocagem ineficiente, manuseio sem controle das sementes entre outras.

Os bolores estão bem difundidos na natureza, estão presentes no solo, no ar, na água e em material orgânico em decomposição. As leveduras apesar de estarem bem difundidas na natureza, mas a sua contaminação é disseminada por insetos vetores, pelo ar e por suas correntes. As leveduras possuem espécies aeróbias estritas e facultativas.

Na maioria dos fungos filamentosos, as hifas contêm paredes cruzadas denominadas septos, que dividem as hifas em distintas unidades celulares uninucleadas (hifas septadas).

Quando as condições ambientais são favoráveis, as hifas crescem formando uma massa filamentosa denominada micélio. E nessa fase que há a deterioração da maioria dos alimentos, devido à concentração fúngica.

Os fungos são quimio-heterotróficos, eles absorvem nutrientes ao invés de ingeri-los, como fazem os animais. Por isso a importância no controle de fungos nos cereais para que não haja uma perda econômica na colheita e no armazenamento.

A tabela 13 mostra os resultados de análise de Y-MSC no MC e MM.

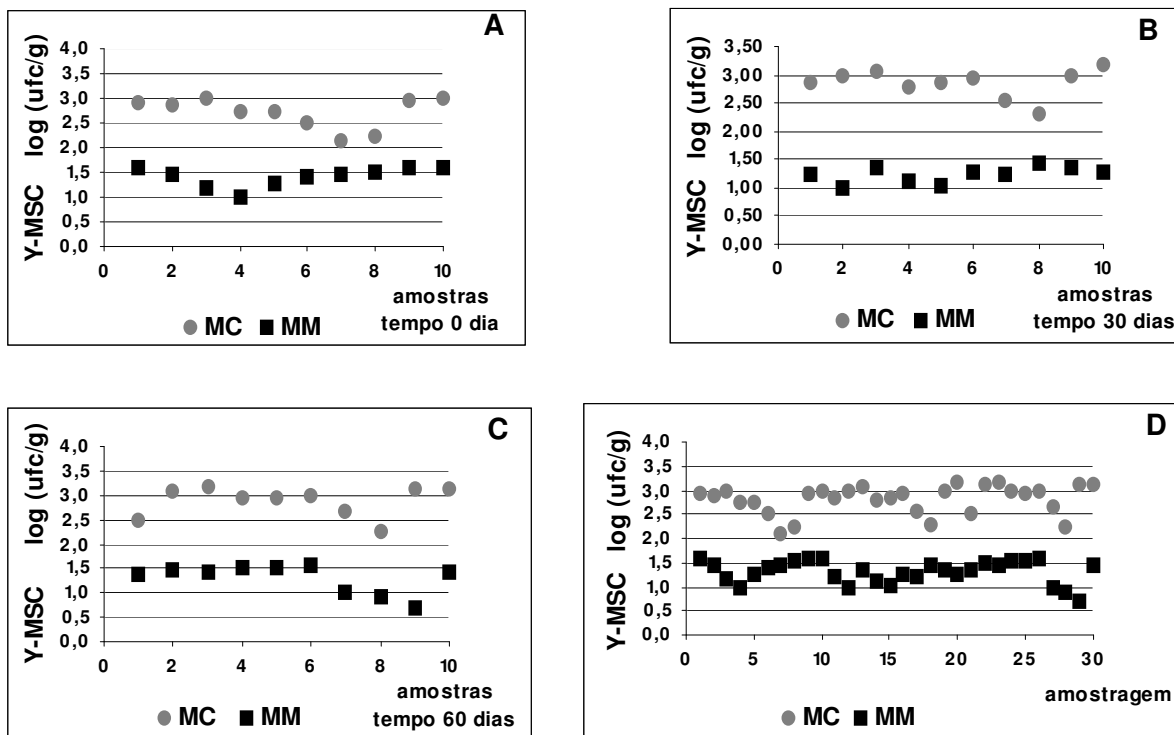
TABELA 13 – ANÁLISE DE Y-MSC NO MC, MM, SC E SM

TIPO	N	Y-MSC log (ufc/g)				
		m	M	$\bar{X}$	SD	SE
MC	90	2,080	3,555	2,805	0,310	0,033
MM	90	0,300	1,670	1,300	0,246	0,026
SC	90	2,080	2,810	2,421	0,160	0,030
SM	90	0,480	1,760	1,403	0,300	0,030

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\bar{X}$  = média; SD = desvio-padrão; SE = erro-padrão.

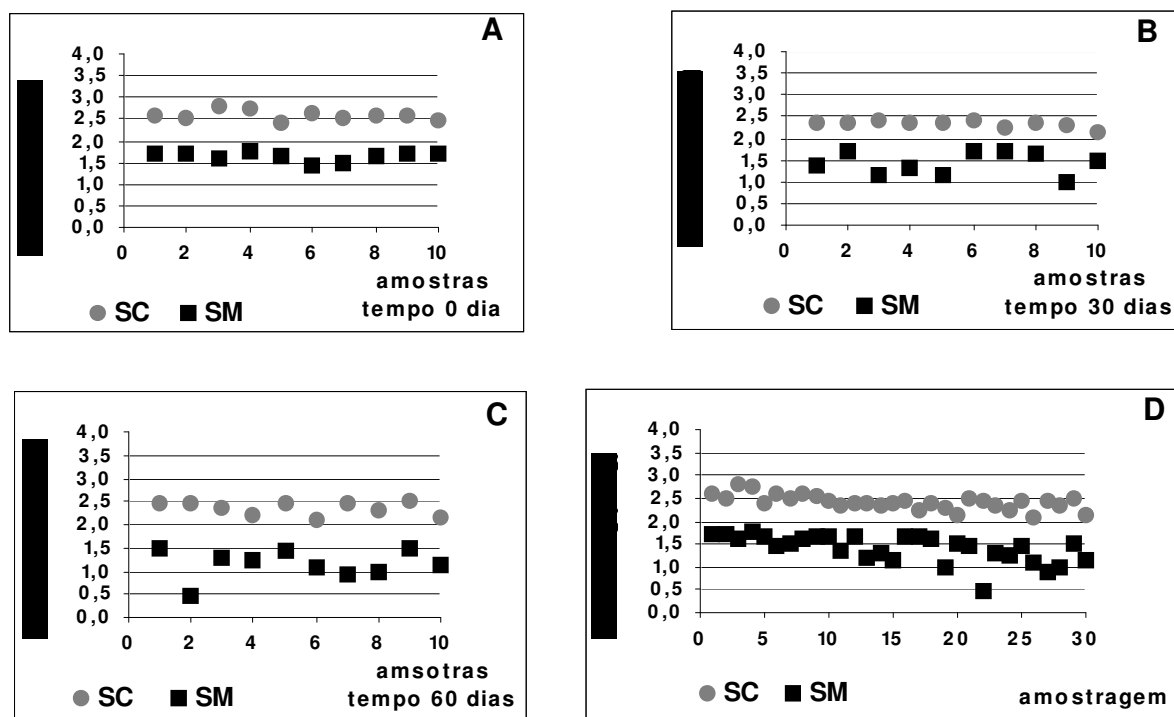
Os Gráficos 11 e 12 apresentam os valores das análises de Y\_MSC para MC, MM, SC, SM.

GRÁFICO 11 – ANÁLISE DE Y-MSC NO MC E MM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

GRÁFICO 12 –ANÁLISE DE Y-MSC NA SC E SM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

Os valores calculados de F mostraram tanto no milho como na soja diferença significativa no nível de 5% ( $P < 0,05$ ).

A análise de fungos filamentosos é importante devido a deterioração que poderá ocorrer nos grãos, além da fermentação, liberando energia (calor), podendo vir ocorrer uma explosão nos silos de armazenamento, se não for controlado o teor de umidade.

O Gráfico 11 apresenta as fases: estacionária e de morte, porém há um pequeno retorno a fase log, em seguida da fase estacionária e a de morte em períodos curtos, sugerindo o desenvolvimento de esporos. Já na soja, como mostra o Gráfico 12, o armazenamento apresenta a fase estacionária.

#### 4.2.3 Análise de Fungos Toxigênicos (FUNGITox) em Grãos de Milho e Soja

A análise de fungos toxigênicos (FUNGITox) é utilizada para detectar a concentração do fungo *Aspergillus flavus*, visto que este microrganismo é o principal contaminador de sementes agrícolas, produzindo as micotoxinas Aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>.

A nomenclatura de FUNGITox deixou-se por não fazer o isolamento na análise, somente deixando o meio de cultura e aspectos físico-químicos para a identificação de *Aspergillus flavus*, porém poderá conter uma contaminação mínima de *Aspergillus parasiticus*, valor este que não prejudicará na contagem já que o objetivo é a quantificação de aflatoxinas e não do tipo de fungo.

O *Aspergillus flavus* e o *Aspergillus parasiticus* produzem ácido aspergílico ou ácido noroaspergílico que reagem com o citrato férrico amoniacal presente no



meio, promovendo a formação de pigmentação amarelo-laranja, mostrando resultado positivo na análise.

A tabela 14 mostra os resultados de análise de FUNGITox no MC e MM.

TABELA 14 – ANÁLISE DE FUNGITox NO MC, MM, SC E SM

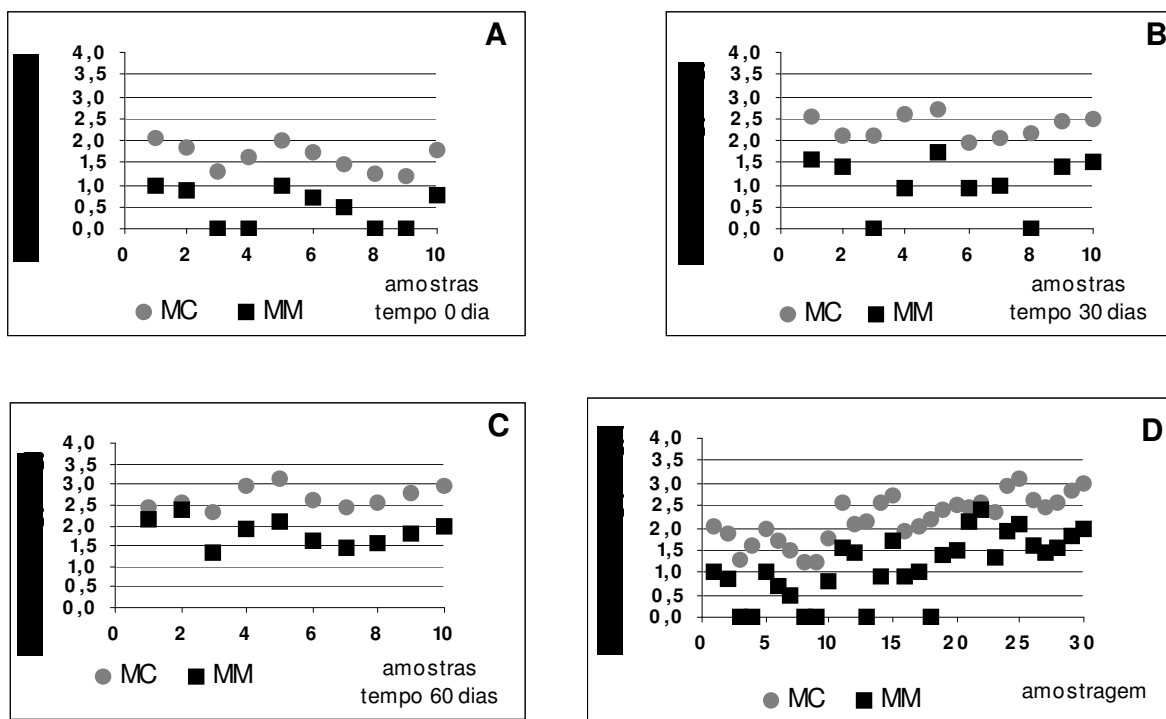
TIPO	N	FUNGITox log (ufc/g)				
		m	M	$\bar{X}$	SD	SE
MC	90	0,000	3,210	1,882	1,019	0,107
MM	90	0,000	2,390	1,138	0,712	0,075
SC	90	0,000	2,610	2,097	0,720	0,080
SM	90	0,000	2,610	1,787	0,820	0,080

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\bar{X}$  = média; SD = desvio-padrão; SE = erro-padrão.

A contaminação por FUNGITox no MC, MM, SC e SM apresentaram diferença significativa no nível de 5%.

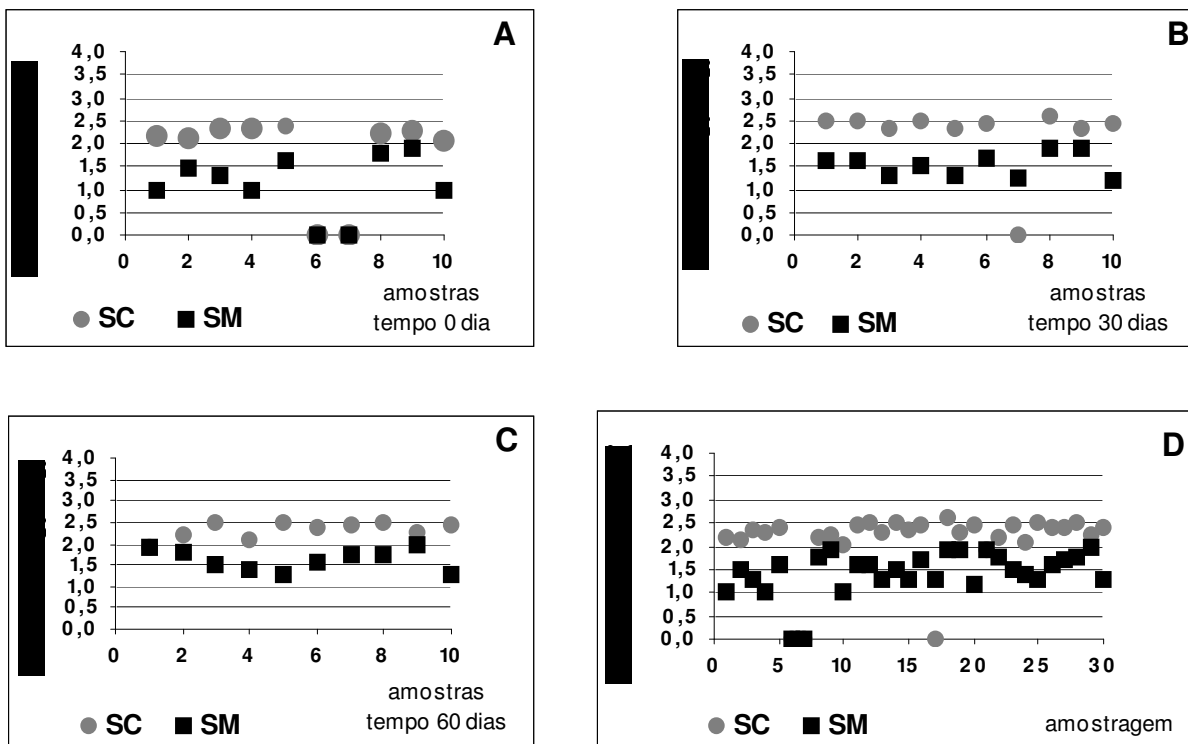
Os Gráficos 13 e 14 apresentam os resultados das análises de FUNGITox nos grãos de MC, MM, Sc e SM.

GRÁFICO 13 – ANÁLISE DE FUNGITox NO MC E MM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

GRÁFICO 14 – ANÁLISE DE FUNGITox NA SC E SM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

O teste de Bartlett confirmou a homogeneidade das amostras e o teste de ANOVA para a concentração de FUNGITox no MC, MM, SC e SM que existe diferença estatisticamente significativa no nível de 5% ( $P < 0,05$ ).

O Gráfico 13 apresenta inicialmente a fase de morte da concentração fúngica, depois caracteriza a fase log e por fim a fase estacionária no MC e MM, ou seja, o armazenamento destes grãos de milho pode estar comprometida futuramente por apresentar fases de desenvolvimento de esporos e crescimento exponencial de fungos, resultando um aparecimento de micotoxinas. Já na soja apresenta uma fase estacionária, porém deve-se fazer análises sequenciais de FUNGITox para verificar se é mesmo a fase estacionária ou é uma fase lag do microrganismo que está sendo lida no Gráfico 14. Como ao longo do tempo entre 30 e 60 dias apresentou uma fase de morte, confirma-se a fase estacionária em direção da fase de morte da cinética de multiplicação fúngica.

#### 4.2.4 Análise de Coliformes Fecais / *Escherichia coli* (NMPCF/Ec) em Grãos de Milho e Soja

Os coliformes não são usualmente patogênicos, embora algumas linhagens o sejam, a sua importância principal é devido ao fato de serem bons indicadores de contaminação fecal.

Entre os coliformes encontram-se os gêneros *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia*. Os três primeiros são encontrados em matéria fecal e podem sobreviver por tempos variáveis em outros habitats, como: solo, superfície de vegetais entre outros; ao passo que *Escherichia*, particularmente *E. coli*, tem seu habitat exclusivo no trato intestinal dos animais e seres humanos.

Para avaliar a higiene sanitária na colheita e no armazenamento dos grãos foi selecionado como indicador a *E. coli*, nas análises de determinação de coliformes fecais.

O habitat da *E. coli* é o intestino grosso e ela sintetiza a vitamina K e algumas vitaminas B; estas vitaminas são absorvidas na corrente sanguínea e distribuídas para as células corporais; em troca, o intestino grosso fornece nutrientes para a bactéria; ou seja, a *E. coli* não passa de mutualismo nos animais, porém se a concentração desta bactéria atingir níveis elevados pode ocasionar uma infecção generalizada, comprometendo todo o organismo do animal.

Por isso a importância de analisar e cuidar dos alimentos para que não haja a contaminação por *E. coli*.

Os resultados das análises de NMPCF/Ec foram 100% negativas, sem fermentação da lactose com produção de gás, não sendo necessário o estudo em placas e provas bioquímicas; ou seja, não houve contaminação de coliformes fecais nas amostras de MC, MM, SC e SM.

#### 4.2.5 Análise de *Salmonella* (SALL) em Grãos de Milho e Soja

O habitat primário e principal de *Salmonella* é o trato intestinal dos homens e dos animais, deste pode passar a alimentos diversos, dando origem ao ciclo de infecção.

O controle de *Salmonella* é importante por sua ocorrência e principalmente por portadores assintomáticos que durante tempo favorável excretam bactérias viáveis; nessas condições, deve-se uma rigorosa vigilância de animais e nas condições de armazenamento.

Os resultados das análises de SALL foram 100% negativas, , não sendo necessário o estudo em placas e provas bioquímicas; ou seja, não houve contaminação de SALL nas amostras de MC, MM, SC e SM.

### 4.3 ANÁLISES MICOTOXICOLÓGICAS

#### 4.3.1 Teor de Aflatoxinas em Grãos de Milho e Soja

As micotoxinas já foram encontradas em quase todos os tipos de cereais, oleaginosas e produtos alimentícios, tanto de origem vegetal como animal. As informações disponíveis atualmente permitem avaliar quais os alimentos e matérias-primas que apresentam maior risco, pois se sabe que alguns produtos são muito mais susceptíveis à invasão por fungos potencialmente toxigênicos do que outros.

A importância da análise do teor de aflatoxinas nos grãos deve-se a perda econômica direta devido ao decréscimo de seus nutrientes, podendo ainda proliferar doenças e morte aos animais, já que a maior parte da produção de milho e de soja são destinadas à fabricação de ração animal.

A Tabela 15 e os Anexos 12 e 17 mostram os resultados da análise de teor de aflatoxinas no MC, MM, SC e SM.

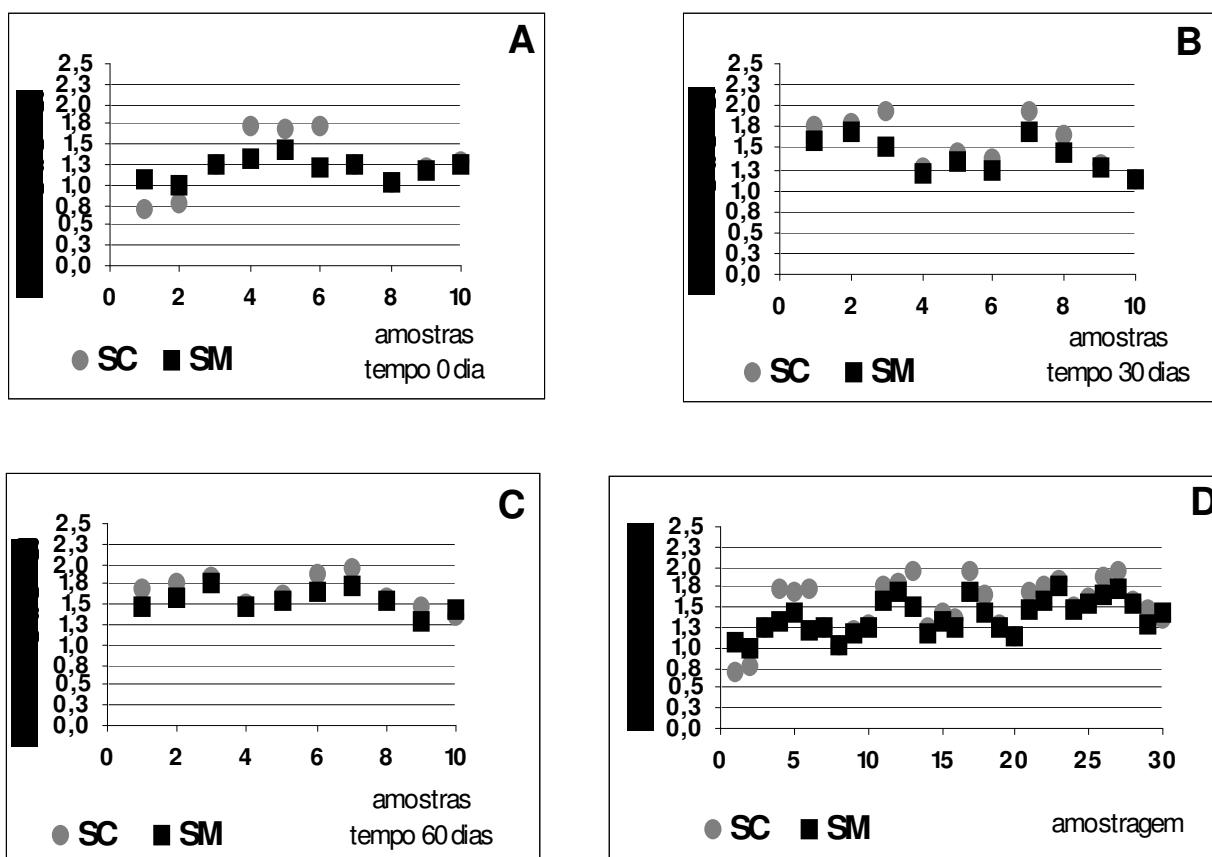
TABELA 15– TEOR DE AFLATOXINAS NO MC, MM, SC E SM

TIPO	N	TEOR DE AFLATOXINAS log (ppb)				
		m	M	$\bar{X}$	SD	SE
MC	90	1,110	2,612	1,756	0,353	0,037
MM	90	< 1,000	1,310	< 1,000	0,526	0,055
SC	90	< 1,000	1,960	1,495	0,330	0,030
SM	90	< 1,000	1,750	1,380	0,210	0,030

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\bar{X}$  = média; SD = desvio-padrão; SE = erro-padrão.



GRÁFICO 16 – TEOR DE AFLATOXINAS NA SC E SM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

Os Gráficos 15 e 16 reproduzem no milho e na soja a formação de metabólitos secundários, os quais não estão diretamente relacionada ao potencial da contaminação fúngica. Esta formação de micotoxinas poderá ocorrer quando a cinética entrar na fase de morte, porém sabe-se que nem sempre na fase de morte há liberação de micotoxinas, esta pode também ocorrer na fase estacionária.

O Gráfico 15 apresenta maior continuidade no MC do que no MM, mostrando que poderá ter uma maior facilidade no controle de micotoxinas neste tipo de grão. Já o Gráfico 16 mostra a variação da contaminação da soja devido às fases estacionárias e de morte apresentadas na cinética de multiplicação do fungo *Aspergillus flavus*.

#### 4.3.2 Teor de Fumonisinas em Grãos de Milho e Soja

A ocorrência das fumonisinas em alimentos principalmente em milho tem sido relacionada às doenças muitas delas fatais em animais, mesmo com baixa concentração dessa toxina pode provocar necrose e outros sintomas em sementes agrícolas.

Os resultados das análises de teor de fumonisinas na SC e na SM foram 100% negativas para o limite mínimo de detecção da análise de 0,25 ppm, subentende-se que poderá haver uma contaminação abaixo deste valor, o que não foi observado nesta análise devido à falta de equipamento necessário.

Os resultados obtidos de teor de fumonisinas na SC e na SM mostram que este tipo de micotoxina liberada por meio da infestação do fungo *Fusarium spp*, ainda não aparece significativamente nas lavouras de soja, porém se não houver um alerta das autoridades agrícolas no âmbito dos Ministérios da Agricultura e da Saúde poderá vir a ter a facilidade de contaminação, visto que já encontra-se teores da contaminação fúngica nas lavouras de milho.

A Tabela 16 mostra os resultados da análise do teor de fumonisinas no MC e MM.

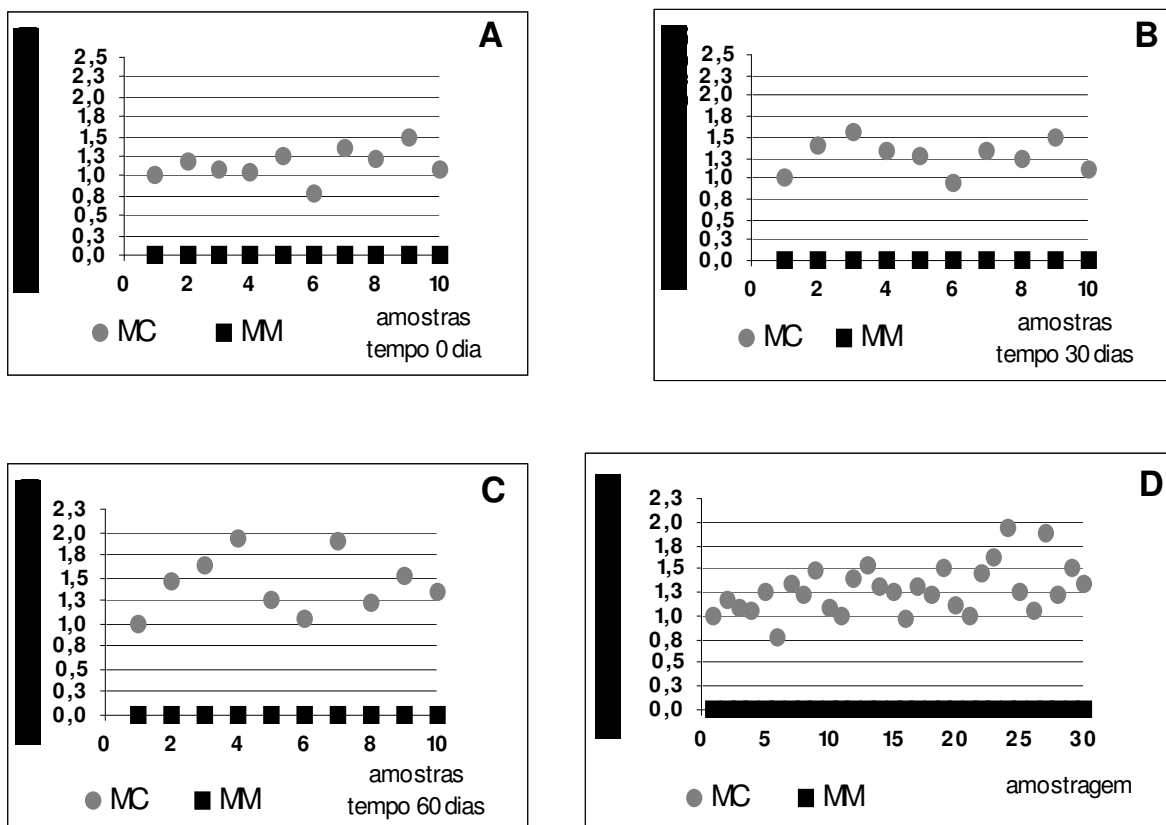
TABELA 16 – TEOR DE FUMONISINAS NO MC E MM

TIPO	N	FUMONISINAS log (ppm)				
		m	M	$\bar{X}$	SD	SE
MC	90	0,950	1,920	1,313	0,248	0,026
MM	90	< 0,250	< 0,250	< 0,250	0,000	0,000

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\bar{X}$  = média; SD = desvio-padrão; SE = erro-padrão.

Após a análise da tabela 16 pode-se verificar que o MC é mais susceptível ao ataque do *Fusarium spp* do que o MM; logo, obtendo um valor maior de concentração de fumonisinas. Os valores de MM estão com resultados < 0,250 devido ao limite mínimo de detecção da análise. O Gráfico 17 mostra o teor de fumonisinas no MC e MM.

GRÁFICO 17 – TEOR DE FUMONISINAS NO MC E MM



NOTA: A= gráfico com as médias de amostragem no tempo 0; B= gráfico com as médias de amostragem no tempo 30 dias; C= gráfico com as médias de amostragem no tempo 60 dias e D= gráfico com as médias de amostragem total.

Os resultados obtidos do teor de fumonisinas no MC mostram a expansão da demanda da infestação do fungo *Fusarium sp*, isto é preocupante porque este fungo aceita a coexistência de outros fungos toxigênicos, tendo a contaminação da semente com outras micotoxinas.

#### 4.3.3 Teor de Zearalenona em Grãos de Milho e Soja

O acesso de patógenos às sementes pode ser influenciado por inúmeros fatores, entre os quais a própria natureza do parasitismo de cada organismo. Dentre os agentes patogênicos, os fungos são os mais ativos, tendo uma maior



habilidade para penetrar diretamente nos tecidos vegetais e se estenderem mais facilmente sobre estes.

Por isso o incremento de novas análises e estudos de fungos toxigênicos, mesmo muitas vezes sabendo que o clima e o tipo de solo não são favoráveis ao crescimento de certos fungos.

A zearalenona é uma micotoxina que tem sido muito estudada pelo efeito causado aos animais, induzindo modificações hematológicas e inibindo a síntese de macromoléculas, como os ácidos nucleicos e as proteínas.

Os resultados das análises de zearalenona no MC, MM, SC e SM foram 100% negativos para o limite mínimo de detecção da análise de 0,1 ppm, subentende-se que poderá haver uma contaminação abaixo deste valor, o que não foi observado nesta análise.

Em programas de certificação de sementes, nos quais se busca manter a integridade genética das variedades recomendadas pelo controle de gerações e da qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes, duas fases são claramente distintas em cada geração do sistema: a fase de campo, propriamente dita, e a fase de controle de qualidade, cujo início ocorre no próprio campo e prossegue nas etapas de colheita até a comercialização.

Em ambas as etapas, o conhecimento da dinâmica e dos mecanismos de transmissão e de dispersão de patógenos por sementes é requisito fundamental para o controle de doenças.

#### 4.4 CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL COM *Aspergillus flavus* ATCC 9643, CCT 3125

As análises da contaminação artificial em grãos de milho e soja apresentam a hipótese de existência ou não de uma modificação nas características com relação à troca com o ambiente externo desde do campo até o armazenamento, contribuindo assim para uma melhor qualidade dos grãos em relação a características microbiológicas e micotoxicológicas.

A contaminação artificial do MC, MM, SC e SM foi realizada mediante aumento da umidade para o nível de 18,4% e com a inoculação de cepas do fungo

*Aspergillus flavus* ATCC 9643, CCT 3125 aproximadamente na concentração de  $10^4$  ufc/g, cedidas pela Fundação André Tosello Pesquisa e Tecnologia.

#### 4.4.1 Teor de Umidade X Teor de Atividade de Água na Contaminação Artificial de Milho e Soja

A análise do teor de umidade e da atividade de água na contaminação artificial no MC, MM, SC e SM, conforme os Gráficos 18 e 19 mostram que a água livre e a água ligada possuem características diferenciadas em relação ao tipo de grão.

Os Gráficos 18 e 19 mostram os resultados dos teores de umidade e de atividade de água na contaminação artificial do MC, MM, SC e SM.

GRÁFICO 18 – TEOR DE UMIDADE E DE ATIVIDADE DE ÁGUA ( $A_w$ ) NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DO MC E MM

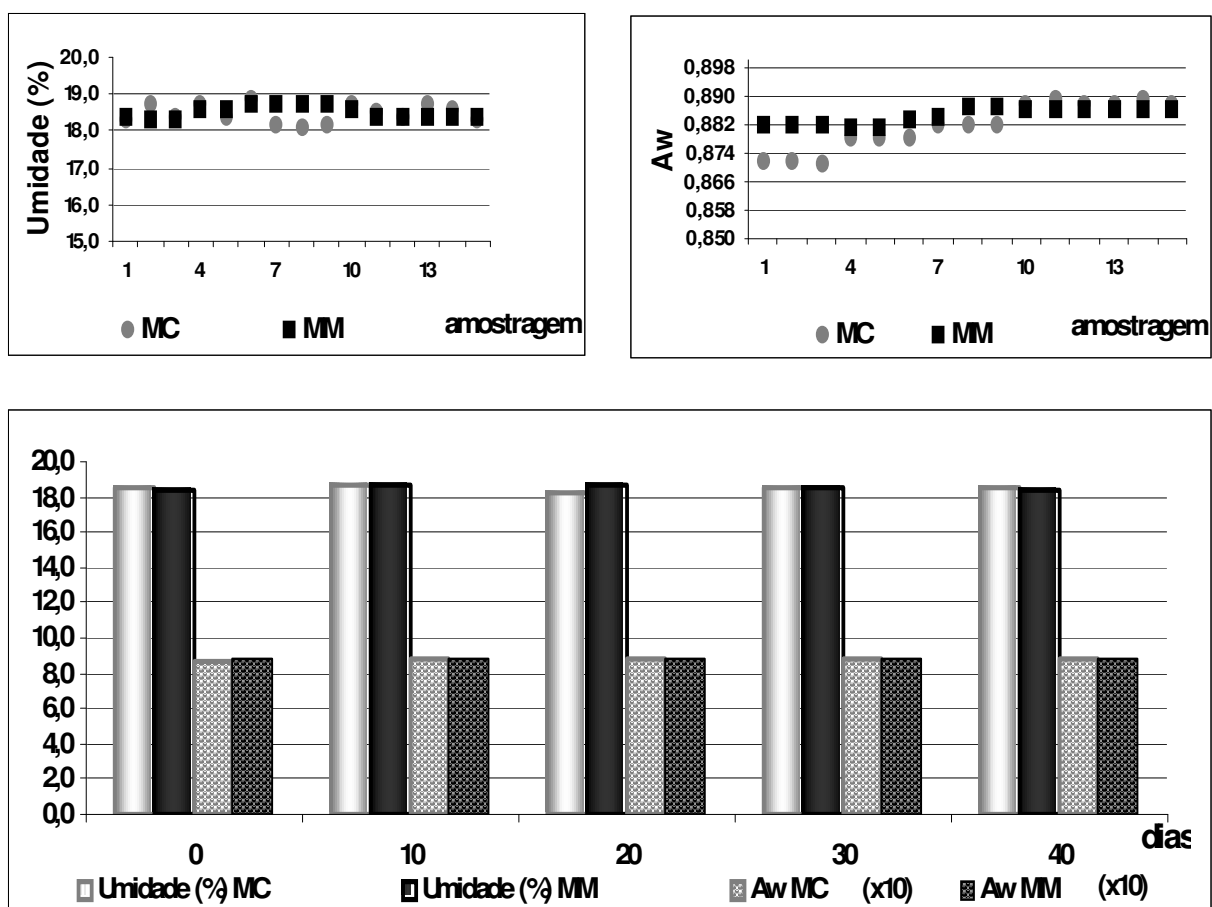
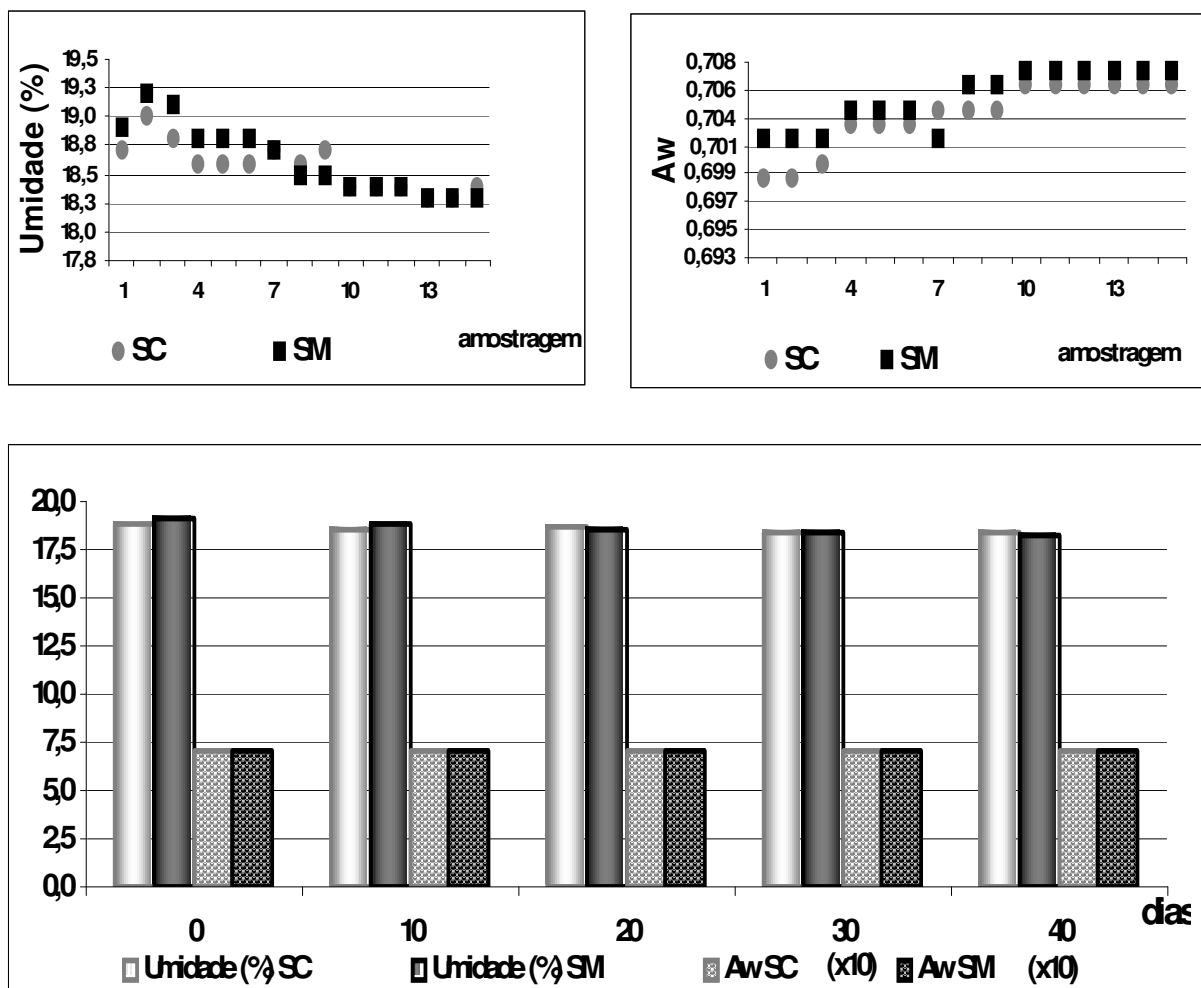


GRÁFICO 19 – TEOR DE UMIDADE E DE ATIVIDADE DE ÁGUA ( $A_w$ ) NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DA SC E SM



A importância da análise do teor de umidade e da atividade de água deve-se pela qualidade do produto alimentício, no caso o milho e a soja, em questão o teor de umidade tem-se a preocupação na qualidade de seu armazenamento para que não prolifere uma flora microbiana e também não ocorra a formação de gases, estes geralmente dependendo da concentração podem ser letal. Em questão do teor de atividade de água tem-se a preocupação de quantificar a quantidade de água livre disponível que poderá ser um potencial deteriorante do milho e da soja, fazendo com que perca sua atividade econômica para a indústria; além de saber qual será a velocidade de multiplicação de certos microrganismos indesejáveis ao produto.

O Gráfico 18 apresenta um teor de umidade não uniforme tanto para o MC como para o MM, porém nota-se um maior equilíbrio com o meio externo o MM. Já a atividade de água o MM apresenta uma relação com o teor de umidade.

O Gráfico 19 a relação entre o teor de umidade e de atividade de água da soja é maior, verifica-se que quando há um equilíbrio no teor de umidade, também ocorre no teor de atividade de água.

#### 4.4.2 Teor de Fungos Toxigênicos (FUNGITox) na Contaminação Artificial do Milho e Soja

A invasão de sementes por fungos pode causar a descoloração do grão. Os grãos fungados possuem um odor característico de mofo, e a qualidade de seus produtos será precária. O tempo de estocagem será reduzido. As hifas fúngicas ficam visíveis antes de aparecer qualquer sinal de deterioração no resto da semente. Além dos danos ocasionados pela colheita mecânica, tais como riscos ou rachaduras, permitem o ataque fúngico rápido do grão.

A análise de teor de fungos toxigênicos na contaminação artificial refere-se ao teor dos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*.

A Tabela 17 e os Anexos 13 e 18 mostram os resultados do teor de FUNGITox na contaminação artificial de MC, MM, SC e SM.

TABELA 17 – TEOR DE FUNGITox NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE MC, MM, SC e SM

TIPO	N	FUNGITox log (ufc/g)				
		m	M	$\bar{X}$	SD	SE
MC	45	0,000	5,270	3,792	1,975	0,294
MM	45	0,000	4,210	3,254	1,648	0,246
SC	45	0,790	4,100	3,350	1,260	0,200
SM	45	0,300	3,970	3,240	1,390	0,200

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\bar{X}$  = média; SD = desvio-padrão; SE = erro-padrão.

Os valores obtidos para FUNGITox a partir da contaminação do milho e da soja apresentou uma maior resistência ao crescimento o MM e a SM em relação ao MC e SC.

Os Gráficos 20 e 21 apresentam os resultados do teor de FUNGITox na contaminação forçada de MC, MM, SC e SM.

GRÁFICO 20 –TEOR DE FUNGITox NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE MC E MM

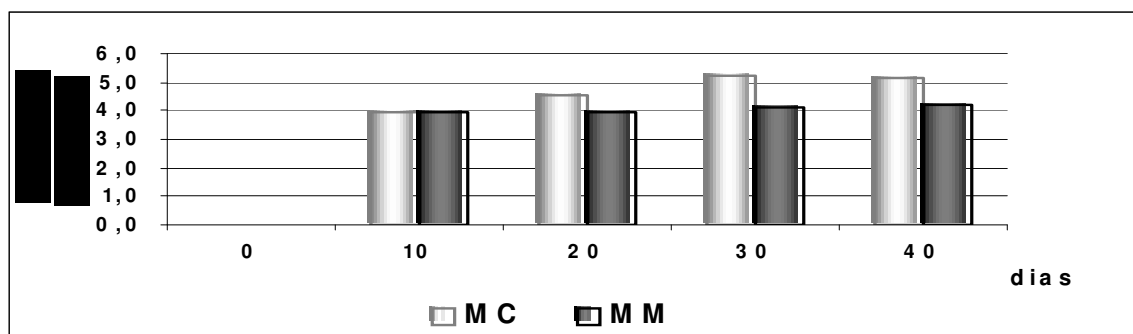
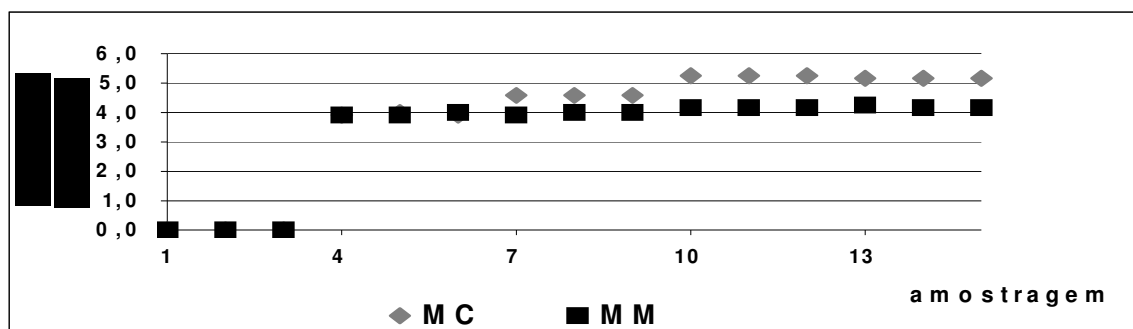
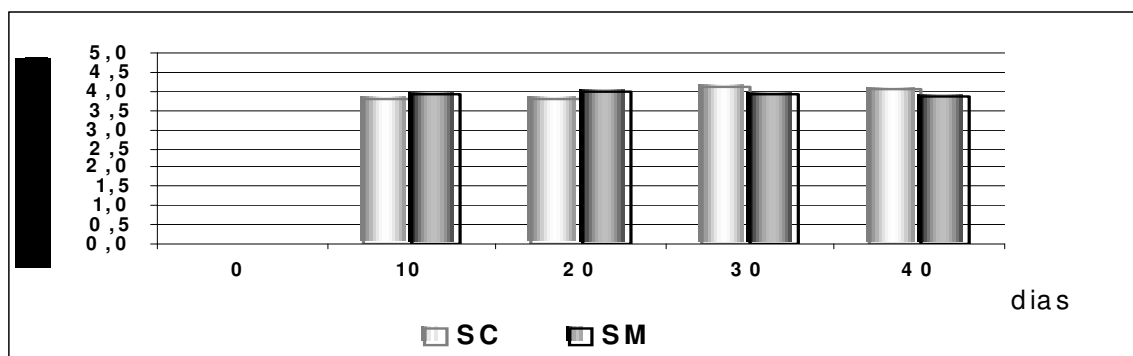
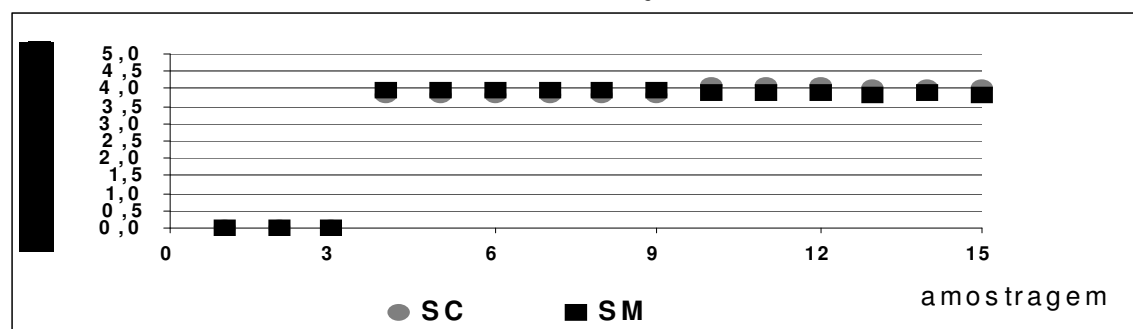


GRÁFICO 21– TEOR DE FUNGITox NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE SC E SM



O Gráfico 20 apresenta um crescimento microbiano semelhante, porém após vigésimo dia de armazenamento o MC tende a possuir uma fase log mais acentuada que a do MM.

Apesar da resistência da SM para o crescimento microbiano ser maior que a da SC, mesmo assim ao observar o gráfico 21, os grãos possuem características semelhantes.

Tanto o milho como a soja após o vigésimo dia de armazenamento apresentam a fase estacionária e esta fase é longa percorre até o quadragésimo dia de armazenamento, onde poderá ter uma grande liberação de micotoxinas.

#### 4.4.3 Teor de Aflatoxinas na Contaminação Artificial no Milho e Soja

As micotoxinas são dados importantes para a saúde pública já que na maioria são encontradas nos cereais e transmitidas aos homens e animais.

A Tabela 20 mostra os resultados do teor de aflatoxinas no MC e no MM na contaminação artificial.

TABELA 20 – TEOR DE AFLATOXINAS NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE MC, MM, SC E SM

TIPO	N	TPC log (ufc/g)				
		m	M	$\bar{X}$	SD	SE
MC	45	0,000	2,490	1,552	0,880	0,131
MM	45	0,000	1,260	0,850	0,482	0,072
SC	45	0,000	1,820	1,091	0,610	0,080
SM	45	0,000	1,330	0,772	0,450	0,080

NOTA: N = número de amostras analisadas;  $\bar{X}$  = média em log; SD = desvio-padrão; SE = erro-padrão.

GRÁFICO 22 – TEOR DE AFLATOXINAS NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE MC E MM

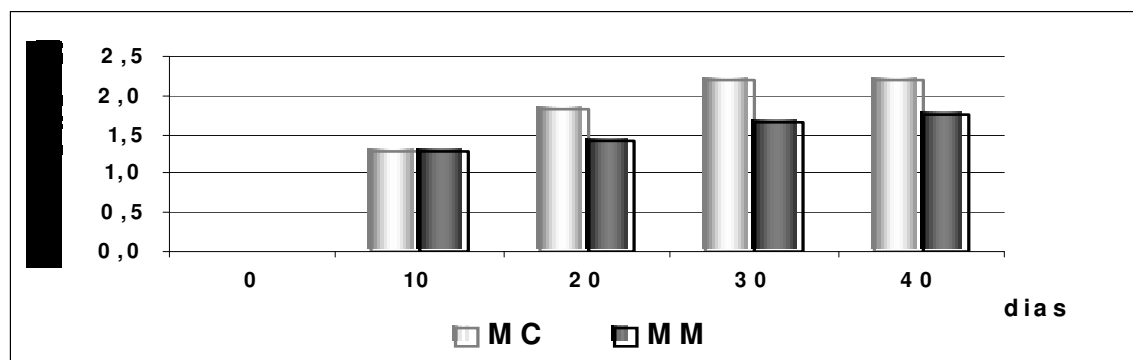
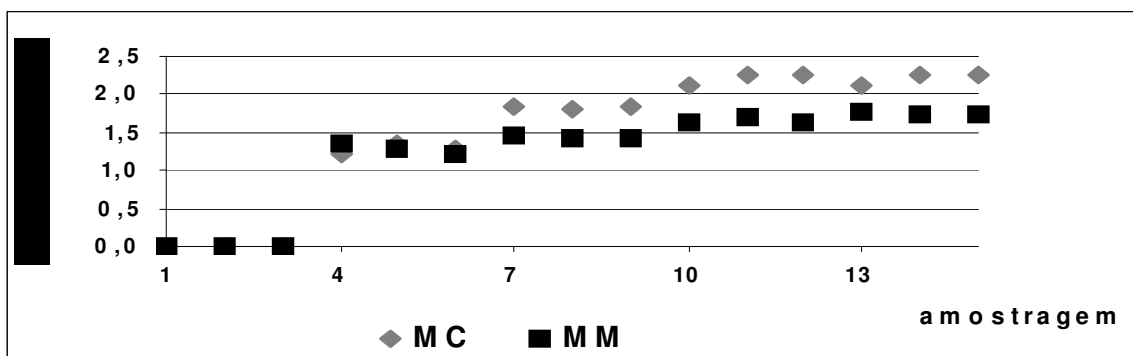
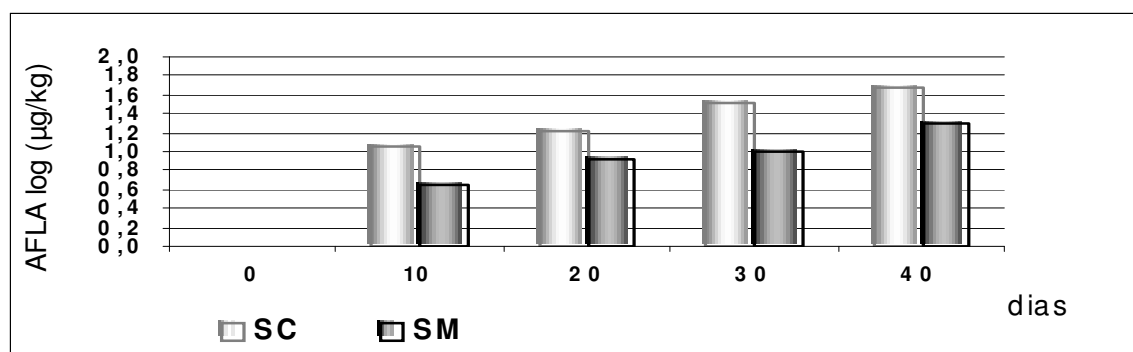
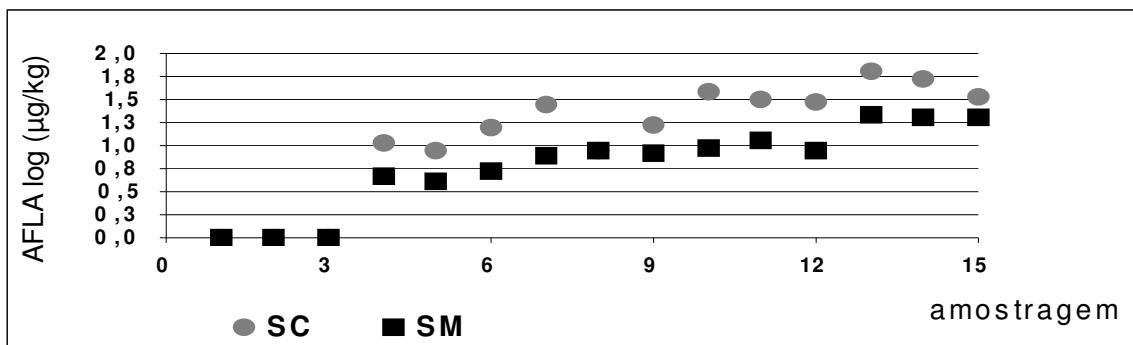


GRÁFICO 23– TEOR DE AFLATOXINAS NA CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL DE SC E SM



As características de contaminação por aflatoxinas no milho e na soja pode ser observada nos Gráficos 22 e 23 nota-se uma equivalência no desempenho desta contaminação, sendo que os grãos provenientes da semente geneticamente modificada possuem uma contaminação menor do que os provenientes de semente natural. E esta característica está bem acentuada na soja, visto que a contaminação fúngica possui um período longo na fase estacionária de sua cinética de multiplicação microbiana, constatando que nesta fase é a mais preocupante em referencia a liberação de metabólitos secundários.



## CAPÍTULO 5: CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram as seguintes conclusões para os testes realizados com o milho convencional (MC) e o milho geneticamente modificado (MM) e com a soja convencional (SC) e a soja geneticamente modificada (SM):

Em relação a teor de umidade e cinzas entre o MC e o MM não há diferença estatisticamente significativa no nível de 5%,  $P > 0,05$ . Constatou-se mais uma vez que com os estudos científicos de controle de umidade, o milho é um dos cereais beneficiado, conseguindo que do menor ao maior produtor obtenha um controle estável, dando uma segurança para que tenha uma produção com lucratividade e com menor contaminação microbiana, como consequência.

Quanto ao teor de atividade de água entre o MC e MM houve diferença significativa no nível de 5%,  $P < 0,05$ .

Em relação ao teor de umidade e atividade de água entre a SC e a SM houve diferença significativa no nível de 5%,  $P < 0,05$ .

Quanto ao teor de cinzas entre a SC e SM não houve diferença significativa no nível de 5%,  $P > 0,05$ .

Em relação à contagem total de bactérias mesófilas (TPC), bolores e leveduras (Y-MSC) e FUNGITox do milho e da soja, entre as sementes naturais e geneticamente modificadas houve diferença significativa no nível de 5%,  $P < 0,05$ . Os resultados de contaminação bacteriana no milho foram razoavelmente baixos em relação ao teor de umidade encontrada, seguindo a coerência com valores altos de umidade uma maior incidência bacteriana. A preocupação recai sobre a soja, visto que o teor de umidade em torno de 12,4 a 14,8%, é considerado alto, já que o limite para que não haja um crescimento microbiano na soja é de 8%.

Os resultados para análise de coliformes fecais, tendo como indicador a *Escherichia coli* e a contagem de *Salmonella* obtiveram resultados 100% negativos, ou seja, não houve contaminação nas amostras de milho e soja destes microorganismos.

Com relação ao teor de aflatoxinas no milho e na soja observou-se entre as sementes naturais e geneticamente modificadas diferença significativa no nível de 5%,  $P < 0,05$ .

Em relação ao teor de fumonisinas entre o MC e o MM houve diferença significativa no nível de 5%,  $P < 0,05$ , já para a soja os resultados foram 100% negativos, sendo o limite mínimo de detecção da análise de 0,25 µg/g.

O teor de zearalenona nas amostras milho e soja obtiveram 100% negativo, sendo que o limite mínimo de detecção da análise de 0,10 µg/g.

O resultado da contaminação artificial para o teor de umidade e de teor de atividade de água tanto para o milho como para a soja observou-se que possuem características diferenciadas em relação ao tipo de semente; os valores encontrados dificultam o crescimento fúngico e conseqüentemente a liberação e produção de micotoxinas; porém são teores que poderão ser controlados por apresentarem uma tendência continua e específica.

Para o teor de aflatoxinas na contaminação artificial tanto no milho como na soja, entre as sementes naturais e geneticamente modificadas houve diferença significativa no nível de 5%,  $P < 0,05$ . Porém, as sementes geneticamente modificadas obtiveram resultados menores de contaminação micotoxicológica que as sementes naturais.

A população deve ser informada por meio de relatos científicos e não por meras suposições de evidências não acadêmicas que podem colocar a ciência em naufrágio perante o desenvolvimento agrícola. O que se almeja no futuro é uma alimentação direcionada e mais segura.

## REFERÊNCIAS DE TRABALHOS PUBLICADOS DA TESE

CANÇADO, Rupércio Alvares; FREITAS, Renato João Sossela de. Metodologia simplificada para detecção de aflatoxinas em milho. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 3, n. 2 jul/dez, p. 95-102, 2002.

CANÇADO, Rupércio Alvares; FREITAS, Renato João Sossela de. Milho: Teor de umidade x Atividade de água. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 6, n. 29 nov/dez, p. 84-90, 2002

CANÇADO, Rupércio Alvares; FREITAS, Renato João Sossela de. Olho vivo: detecção de aflatoxinas em grãos de milho. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas-RS, v. 5, n. 47, p. 06-08, 2003.

CANÇADO, Rupércio Alvares; AQUINO, Arislete Dantas de; FREITAS, Renato João Sossela de. Análise de micotoxinas ocratoxinas (*Aspergillus ochraceus*) via cromatografia em camada delgada em analogia com a catálise heterogênea tomando como base o café (*Coffea arabica*). In: VIII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2003, Curitiba. **Anais**. Curitiba: VIII ERSCTA - sbCTA-PR/UFPR/PUCPR, 2003. v. único, p. 417-420.

CANÇADO, R; AQUINO, A. D.; FREITAS, R. J. S.. Analysis of mycotoxins ochratoxins (*Aspergillus ochraceus*) chromatography in analogy with the heterogeneous catalysis taking as base the coffee (*Coffea arabica*). In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA – CBM 2003, Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: CBM 2003 – SBM, 2003. v. único, p. MX044.

CANÇADO, R; FREITAS, R. J. S.. Soja convencional x soja geneticamente modificada, microbiologia e micotoxilogia. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS – XIX CBCTA, Recife. **Anais**. Recife: sbCTA, 2004. v. único, p. 1048-1-4.

## GLOSSÁRIO

<b>Actinomiceto</b>	= Grupo de bactérias que formam filamentos ramificados, com características de bactérias e fungos.
<b>Adsorção</b>	= É a remoção de fosfato, herbicida ou outra substância do ar ou da água e a sua subsequente retenção pelos colóides do solo.
<b>Aflatoxina</b>	= Polímero com ação carcinogênica, produzido por fungos especialmente em amendoim ( $C_{17}H_{10}O_6$ ).
<b>Agar</b>	= Polissacarídeo gelatinoso obtido da alga-vermelha <i>Gelidium corneum</i> . É utilizado como agente gelificante do meio nutritivo; solidifica-se a 44° C e funde-se a 100° C.
<b>Agrobacterium tumefaciens</b>	= Bactéria gram-negativa, nativa do solo, portadora do plasmídeo Ti, causadora de tumores em plantas e utilizada em transformação gênica.
<b>Água disponível</b>	= Água presente no solo em condições de ser prontamente absorvida pelas raízes das plantas. A disponibilidade de água depende de propriedades da planta e do solo e de condições micrometeorológicas. É considerada como o teor de água retido pelo solo entre a capacidade de campo e o ponto de murcha permanente.
<b>Água ligada</b>	= É a água que está intimamente ligada às moléculas constituintes do produto, não podendo ser removida ou utilizada para qualquer tipo de reação.
<b>Alelopatia</b>	= Influência de uma planta no desenvolvimento de outra, geralmente pela exudação de substâncias químicas na raiz.
<b>Análise de variância</b>	= Técnica estatística para separação da variância total de uma característica em diferentes fontes de variação.
<b>Antioxidante</b>	= Composto orgânico que adsorve radicais livres e, desta forma, previne a autoxidação de óleo, gordura e outros compostos.
<b>Ascomiceto</b>	= Grupo de fungos que produzem esporos sexuais, ascósporos.
<b>Atividade de água (Aw)</b>	= É a água que está disponível para as reações físicas (evaporação), químicas (escurecimento) e microbiológicas, tornando-se a principal responsável pela deterioração do produto. Esta água pode ser medida e através do seu valor pode-se determinar a suscetibilidade do produto a degradação.
<b>Crossing over</b>	= Permuta de material genético entre cromossomos homólogos.
<b>ELISA</b>	= ( <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> ) teste imunológico com dois anticorpos. O primeiro é específico para o antígeno de interesse, e o segundo é uma antiglobulina a que uma enzima se fixa. O primeiro anticorpo liga-se ao antígeno e, então, a antiglobulina liga-se ao anticorpo primário.
<b>Esporos</b>	= Unidade reprodutiva dos fungos.
<b>Estande</b>	= Número de indivíduos por unidade de área.
<b>Fenótipo</b>	= (1) aparência de um indivíduo sem referência à sua composição genética ou ao genótipo; (2) grupo de indivíduos com aparências semelhantes, porém não necessariamente com idênticos genótipos.
<b>Fumigação</b>	= Processo de aplicação de um composto químico no estado gasoso para controlar insetos, nematóides, fungos, plantas daninhas, etc.
<b>Fungo imperfeito</b>	= Fungo que não produz esporos sexuais.
<b>Gene</b>	= Unidade física e funcional da hereditariedade que codifica uma proteína funcional ou molécula de RNA; segmento cromossômico, plasmídeo ou molécula de DNA que contém regiões que precedem e seguem a região codificadora.
<b>Hifa</b>	= Ramificação de micélio.

<b>Hilo</b>	= (1) parte central do grão de amido em que as camadas desta substância se dispõem mais ou menos concentricamente; (2) cicatriz deixada pelo funículo numa semente.
<b>Inóculo</b>	= Patógeno ou uma de suas partes que pode ser utilizada para causar infecção.
<b>Inóculo primário</b>	= Propágulo que dá início ao primeiro ciclo de uma doença.
<b>Isoenzima</b>	= Forma diferente da mesma enzima que ocorre num mesmo organismo com afinidade para um mesmo substrato.
<b>LD 50</b>	= A quantidade do tratamento que resulta na morte de 50% dos indivíduos tratados (dose letal).
<b>Micélio</b>	= Filamentos que formam o corpo vegetativo de um fungo.
<b>Micotoxicologia</b>	= Ramo da biologia que estuda as substâncias tóxicas produzidas por diversos fungos, estes chamados de fungos toxigênicos.
<b>Micotoxina</b>	= Substância tóxica produzida por diversos fungos em sementes infectadas e outros produtos agrícolas, capaz de causar doenças em homens e animais que a ingerirem.
<b>Promotor</b>	= Região do DNA a que a RNA polimerase se liga para iniciar a transcrição.
<b>Recessivo</b>	= Alelo que não se expressa na presença do alelo dominante.
<b>Umidade relativa</b>	= Expressa em percentagem, representa a razão entre o vapor d'água do ar e o vapor que estaria contido no mesmo ar, se este estivesse saturado.
<b>Variação</b>	= Diferenças entre indivíduos devido a polimorfismo em sua composição genética ou ao meio em que se desenvolvem.
<b>Variância</b>	= Média dos quadrados dos desvios de uma variável em relação a sua média; é o quadrado do desvio-padrão.
<b>Zigoto</b>	= Célula formada pela união de dois gametas

## REFERÊNCIAS

ABDULLAH, N.; NAWAWI, A.; OTHMAN, I. Fungal spoilage of starch-based foods in relation to its water activity ( $a_w$ ), **Journal of Stored Products Research**, London, v. 36, n. 1, p. 47-54, jan,2000.

ABIMILHO – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS MOAGEIRAS DE MILHO. **Riqueza e produtividade.** Disponível em: <<http://www.abimilho.com.br/milho.htm>> Acesso em: 13 jul. 2002.  
Acesso em: 16 out. 2004.

ALIMENTO. In: **MICHAELIS 2000**: moderno dicionário da língua portuguesa. Rio de Janeiro: Reader's Digest; São Paulo: Melhoramentos, 2000. v.1 p. 107.

ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; JONGH, D.C.; JOHNSON, CARL R.; LEBEL, N.A. & STEVENS, C.L. **Química Orgânica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1978. 961p.

ANDRADE F. H. Analysis of growth and yields of maize, sunflower and soybean grown at Balcarce, Argentina, **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 41, n. 1, p.1-12, apr, 1995.

ANGELFIRE. **Babilônia-Brasil**: introdução à mesopotâmia. Disponível em:< <http://www.angelfire.com/me/babiloniabrasil/1hist.html>> Acesso em 28 jul. 2004.

AOAC - AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis of AOAC International**. 17<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, 2000., v 1, cap.17, 173p.

AOCS - AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society**. 3.ed. Champaign, IL: AOCS, 1985. v. 1.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4<sup>th</sup> ed. Washington, DC: APHA Publisher, 2001.

ARAGÃO, F. J. L. **Organismos transgênicos**: explicando e discutindo a tecnologia. São Paulo: Editora Manole Ltda, 2003. 115p.

AZEVEDO, J. L. Fungos: genética e melhoramento de fungos na biotecnologia, **Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 12-15, maio. 1997.

BAKKER-ARKEMA, F. W. **CIGR Handbook of agricultural engineering**: agro-processing engineering, New York: American Society of Agricultural Engineers. v.4, 527 p, 1999.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos**: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. Campinas: Editora da Unicamp, 2001. 401p.

BEIGUELMAN, B. **Curso prático de bioestatística**. Ribeirão Preto: FUNPEC Editora, 2002. 274p.

BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL. Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2001. p.167-178.

BESSOT, J.C. Allergènes végétaux non polliniques, **Revue Française D'Allergologie et D'Immunologie Clinique**, 2002, 13p. (artigo em impressão).

BIOMANIA – SAMPLE SOLUÇÕES. Botânica: semente. Disponível em:<<http://www.biomania.com.br/botanica/semente.php>> Acesso em 28 dez. 2002.

BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. 817p.

BORÉM, A. Produção e comercialização de sementes. Separata de: REIS, M. S.; BORÉM, A.(Ed.); DEL GIÚDICE, M. P. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999a, p. 741-767.

BORÉM, A. Melhoramento da soja. Separata de: SEDIYAMA, T., TEIXEIRA, R.C.; REIS, M. S. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999b, p. 487-533.

BUDAVARI, S. **The merck index**: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13.ed. Whitehouse Station, NJ: Merck Research Laboratories, 2001. 1818p.

BULLERMAN, L.B.; SCHROEDER, L.L. & PARK, K.Y. Formation and control of mycotoxins in food. **Journal of Food Protection**. Ames, 47(8): 637-46, 1984.

BURDOCK, G. A.; SANI, M. G.; CARABIN, J. G. Evaluation of health aspects of kojic acid in food, **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, New York, v. 33, n. 1, p.80-101, feb, 2001.

BURNQUIST, H. L. Biotecnologia agrícola: os impactos socioeconômicos na economia brasileira, **Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 18-21, maio. 1997.



CAMPELO, G. J. A.; KIIHL, R. A. S.; ALMEIDA, L. A. Características agronômicas e morfológicas das cultivares de soja desenvolvidas para as regiões de baixas latitudes, **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**, Brasília, v. 1, n. 1, p.1-15, mar, 1998.

CANÇADO, R. A. **Metodologia simplificada através da contagem por fluorescência com luminosidade amarelo-esverdeada – CFLAE para detecção de aflatoxinas em milho (*Zea mays* Linné)**. Curitiba, 2001. 89f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

CARNEIRO, A. A. et al. Milho transgênico: melhoria da qualidade nutricional do grão, **Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, ano III, n. 15, p.42-46, jul/ago, 2000.

CAUSIN, R. Micotossine e cereali: nella responsabilità comune una strategia di prevenzione, **Veneto Agricoltura**, Legnano-Itália, n. 7, p.1-4, set. 2002.

CELARO, J.C. Unidades armazenadoras a nível de propriedade. In: CONGRESSO NACIONAL DO MILHO E SORGO, 19, Porto Alegre, 1992. **Conferências**. Porto Alegre: SAA, 1992. p. 234-46.

CEREAL. In: **MICHAELIS 2000**: moderno dicionário da língua portuguesa. Rio de Janeiro: Reader's Digest; São Paulo: Melhoramentos, 2000. v.1 p. 472.

CLASPAR – CLASSIFICAÇÃO DO ESTADO DO PARANÁ. **Produtos padronizados**: milho e soja. Disponível em: <[http:// www. ctnbio.gov.br/ semtrans.shtml](http://www.ctnbio.gov.br/semtrans.shtml) > Acesso em: 30 set. 2004.

CONWAY, G. **Produção de alimentos no século XXI**: biotecnologia e meio ambiente. São Paulo: Estação Liberdade, 2003. 375p.

COSTA, N. M. B.; BORÉM, A. **Biotecnologia e nutrição**: saiba como o DNA pode enriquecer os alimentos. São Paulo: Nobel, 2003. 214p.

CTNBio – COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA. **Sementes transgênicas**. Disponível em: <[http:// www. ctnbio.gov.br/ semtrans.shtml](http://www.ctnbio.gov.br/semtrans.shtml) > Acesso em: 30 set. 2004.

DERAL – DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL. **Prognóstico agropecuário paranaense**. Disponível em: <<http://www.pr.gov.br/seab/culturas.shtml> > Acesso em: 30 set. 2004.

DHFW – DELHI HEALTH AND FAMILY WELFARE. **Appendix B**: definitions and standards of quality – cereals. Disponível em: <[http:// www.delhihealth.com/ pre-tion/cereals.htm](http://www.delhihealth.com/pre-tion/cereals.htm) > Acesso em: 20 nov.2004.

DINIZ, S. P. S. S. **Micotoxinas**. Campinas: Livraria e Editora Rural Ltda, 2002. 181p.

DRAGACCI, S. **Risques potentiels lies a la presence de mycotoxines dans lês plantes**. AFSSA/LER hygiène et qualité dans les aliments/ Unités toxines microbiennes, Paris, 2002, 20p.

DROBNIK, J. Genetically modified organisms (GMO) in bioremediation and legislation. **International Biodeterioration and Biodegradation**, London, v.44, n.1, p.3-6, jul 1999.

EDWARDS, S.G. Influence of agricultural practices on fusarium infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. **Toxicology Letters**. London, v.153, n.1, p.29-35, oct 2004.

EISLEY, B. **Comparision of bt corn hybrids and equivalent non-bt isolines**. Ohio: Ohio State University Extension, 2001. 4p (Corn Yields Report).

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Tecnologia de produção de soja região Central do Brasil 2004: controle de plantas daninhas. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/controle>> Acesso em: 07 dez. 2004a.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Tecnologia de produção de soja região Central do Brasil 2004: doença e medidas de controle. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/doenca>> Acesso em: 07 dez. 2004b.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Tecnologia de produção de soja região Central do Brasil 2004: manejo de insetos-praga. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/manejo.html>> Acesso em: 07 dez. 2004c.

ENGETECNO – PROJETO PARA INDÚSTRIAS ALIMENTÍCIAS E DE ÁREA DA SAÚDE. **Óleo de soja**. Disponível em: <[http://www.engetecno.com.br/oleo\\_soja](http://www.engetecno.com.br/oleo_soja)> Acesso em: 16 out. 2004.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **CODEX STAN 153-1985** (Rev. 1 – 1995): norma del codex para el maiz. Roma, 1995.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Agricultural data**: faostat. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/collections?subset=agriculture>>. Acesso em: 08 dez. 2004.

FIGUEIREDO, M. B. Doenças fungicas emergentes em grandes culturas, **Biológico**, São Paulo, v. 63, n. 1/2, p. 29-32, jan/dez. 2001.

GANDER, E. S.; MARCELLINO, L. H. Plantas transgênicas, **Biotechnologia: Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 34-37, maio. 1997.

GILBERT, J. Sampling of raw materials and processed foods for the presence of GMOs, **Food Control**, Reading, v. 10, n.6, p.363-365, dec, 1999.

GODOY, R.C.B. **Prognóstico agropecuário**: cultura 14. Curitiba: SEAB/DERAL, 2002. 15p.

GOLDFLUS, F. Ingredientes derivados do processamento da soja aplicados na nutrição animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUINOS E TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO DE RAÇÕES. Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2001. p.97-103.

GUERRA, I.; SOUZA, L. R. A. A polêmica dos alimentos transgênicos: revisão crítica. In: TORRES, E. A. F. S. (Ed.). **Alimentos do milênio**: a impotência dos transgênicos, funcionais e fitoterápicos para a saúde. São Paulo: Signus Editora, 2002. p.15-23.

HAROS, M.; SUAREZ, C. Effect of drying, initial moisture and variety in corn wet milling, **Journal of Food Engineering**, Dublin, v. 34, n. 4, p. 473-481, dec, 1997.

HUBNER, O. **Perfil da agropecuária paranaense**: soja. Curitiba: SEAB/DERAL, 2004, p. 44-46.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Dados agropecuários**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 29 out. 2004.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estatística da produção agropecuária**: agosto 2004. Disponível em: <[http://www2.ibge.gov.br/pub/Producao\\_Agricola/Fasciculo\\_Indicadores\\_IBGE](http://www2.ibge.gov.br/pub/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE)> Acesso em: 30 set. 2004.

IOWA UNIVERSITY. **Corn:** general informations. Disponível em: <<http://www.iowa.edu>> Acesso em: 09 jul. 2002.

JIMÉNEZ, M.; MÁÑEZ, M.; HERNÁNDEZ, E. Influence of water activity and temperature on the production of zearalenone in corn by three *Fusarium* species. **International Journal of Food Microbiology**. London, v.29, n.2/3, p.417-421. apr 1996.

JOSLYN, M.A. **Methods in food analysis:** physical, chemical and instrumental methods of analysis. New York: Academic Press, 1970.

KAGAWA, A. **Standard table of food composition in Japan**. Tokyo: University of Nutrition for Women, 1995. p. 104-105.

KHEIKALLA, Z. H.; HASSANIN, N. I.; AMRA, H. Effect of incubation time, temperature and substrate on growth and aflatoxin production. **International Biodeterioration and Biodegradation**, London, v.30, n.1, p.17-27, 1992.

KOEHLER, H. S. **Estatística experimental**. Curitiba: UFPR, 1999. 124p. (Apostila).

KOEHLER, H. S. **Manual de uso do programa mstatc**. Curitiba: UFPR, 1996. 38p. (Apostila).

KOSTAROPOULOS, A. E.; SARAVACOS, G.D. Thermal diffusivity of granular and porous foods at low moisture content, **Journal of Food Engineering**, Dublin, v. 33, n. ½, p. 101-109, Jul. 1997.

LAZZARINI, S. G.; NUNES, R. **Competitividade do sistema agroindústria da soja**. São Paulo: PENSA/ USP, 1998. 227p.

LARVIN, R. Characterization of soil microbial communities under different potato cropping systems by microbial population dynamics, substrate utilization, and fatty acid profiles. **Soil Biology and Biochemistry**, New York, v.35, n.11, p.1451-1466, nov 2003.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. Traduzido por: W. R. Lodi, A. A. Simões. São Paulo: SARVIER, 1990. p. 203-222. Original inglês.

LEWONTIN, R. **A tripla hélice**:gene, organismo e ambiente. São Paulo: Companhia das Letras, 2002. 137p.

LOGUERCIO, L.L.; CARNEIRO, N. P.; CARNEIRO, A.A. Milho Bt., **Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, ano IV, n. 24, p.46-52, jan/fev, 2002.  
[m/vchembook/index.html](http://m/vchembook/index.html)> Acesso em: 18 out. 2004.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000 138p.

MADEIRA, M.; FERRÃO, M. E. M. **Alimentos conforme a lei**. São Paulo: Editora Manole Ltda, 2002. 443p.

MALLOZZI, M.A.B.; CORRÊA, B. Fungos toxigênicos e micotoxinas. **Boletim Técnico Instituto Biológico**, São Paulo, n. 12, p. 5-26, jul., 1998.

MARTIN, P.M.D.; GILMAN, G.A. **A consideration of the mycotoxin hypothesis with special reference to the mycotoxin of maize, sorghum, wheat and groundnuts**. London: Tropical Products Institute. 1976. 111p. (Report, G105).

MARTINS, M.L.; MARTINS, H. M. Influence of water activity, temperature and incubation time on the simultaneous production of deoxinivalenol and zearalenone in corn (*Zea mays*) by *Fusarium graminearum*. **Food Chemistry**. London, v.79, n.3, p.315-318, nov 2002.

MATEO, J. J.; LLORENS, A.; MATEO, R.; JIMÉNEZ, M. Critical study of and improvements in chromatographic methods for the analysis of type B trychothecenes, **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 918, n. 1, p.99-112, may, 2001.

McALLISTER, T. A.; CHENG, K. J. Microbial strategies in the ruminal digestion of cereal grains, **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 62, n.1, p.29-36, oct. 1996.

MSU - MICHIGAN STATE UNIVERSITY. **MSTATC, versão 2.10**, East Lansing,MI, 1989, 2 disquetes 3½pol., MSDOS.

MSU - MICHIGAN STATE UNIVERSITY. **Statistical methods**, East Lansing,MI, 2004, CDROM, Windows System.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleo e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1998. 150p.

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Doenças relacionadas aos cereais e seus subprodutos**. Disponível em: <<http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/index.html>> Acesso em: 18 out. 2004.

ONISHI, N. Osmophilic yeasts. **Advances Food Research**. n.12, p.53-94, 1963.

ORNELLAS, L.H. **A alimentação através dos tempos**. 2.ed. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2000. 307p.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. 2.ed. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2004. 506p.

PALUDZYSZYN FILHO, E.; KIIHL, R.A.S.; ALMEIDA, L.A. Desenvolvimento de cultivares de soja na região Norte e Nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE CULTURA DA SOJA NOS CERRADOS, 1992 Uberada. **Anais**. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p. 255-265.

PAPP, E.; OTTA, K. H.; ZÁRAY, G; MINCSOVICS, E. Liquid chromatographic determination of aflatoxins, **Microchemical Journal**, Lake Charles, v. 73, n. ½, p.39-46, oct, 2002.

PASSARGE, E. **Genética**: texto e atlas . 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 456p.

PATERNIANI, E.; CAMPOS, M. S. Melhoramento do milho. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora UFV, 1999. p. 429-485.

PFOHL-LESZKOWICZ, A.; CHEKIR-GHEDIRA, L.; BACHA, H. Genotoxicity of zearalenone, na estrogenic mycotoxin: DNA adducts formation in female mouse tissues. **Carcinogenesis**. v.16, p. 2315-2329, 1995.

PITT, J. I.; HOCKING, A.D. Influence of solute and hydrogen ion concentration on the water relations of some xerofilic fungi. **The Journal of General Microbiology**. n. 101, p.35-40, 1977.

PFÜLLER, E.E.; FRIES, M.R.; ANONIOILLI, Z. I.; SANTOS, E.; PEREIRA, J. E.; CAMPOS, B. C.; SAMANIEGO, M.P.G. Dinâmica da população microbiana sob sistema de plantio direto e convencional. Cruz Alta: FUNDACEP, 2000. 4p. (Relatório).

POMERANZ, Y.; MELOAN, C. E. **Food analysis**: theory and practice. 2<sup>nd</sup>. ed. Westport – Connecticut: AVI Publishing, 1982.



RANKIN, M. **Bushels, test weight, shrink and storage**. Wisconsin: UW Extension, 2003. 3p. (Report).

REIS, M. S.; BORÉM, A.(Ed.); DEL GIÚDICE, M. P. Produção e comercialização de sementes. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999, p. 741-767.

SANTOS, O. S. **A cultura da soja -1**: Rio Grande do Sul – Santa Catarina – Paraná. 2.ed. São Paulo: Globo, 1995. 299p.

SÃO PAULO. Código Sanitário do Estado de São Paulo: Lei nº 10.083, de 23 de setembro de 1998. Decreto nº 12.342, de 27 de setembro de 1978 (Regulamento da promoção, preservação e recuperação da saúde no campo de competência da Secretaria do Estado da Saúde). **Normas técnicas e legislação estadual e federal básica e complementar**. Bauru, SP: EDIPRO, 5.ed. atual. ampl., 2003. nta. 33. (Série Legislação Estadual).

SAXENA, J.; MUNIMBAZI, C; BULLERMAN, L. B. Relationship of mould count, ergosterol and ochratoxin A production, **International Journal of Food Microbiology**, Washington-DC, v. 71, n. 1, p.29-34, dec.2001.

SCOTT, W.J. Water relations of food spoilage microorganisms. **Advances Food Research**. n.7, p. 83-127, 1957.

SCUDAMORE, K.A.; NAWAZ, S.; HETMANSKI, M.T. Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs: II. Determination of mycotoxins in maize and maize products. **Food Additives and Contaminants**. V. 15, p.30-55, 1998.

SCUSSEL, V. M. (Org., Ed.). **Atualidades em micotoxinas e armazenagem de grãos**. Florianópolis: Ed. da Autora, 2000. 382p.

SCUSSEL, V.M. **Micotoxinas em Alimentos**. Florianópolis: Insular, 1998. 144p.

SETTI, T. Industrialização do milho no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DO MILHO E SORGO, 19., Porto Alegre, 1992. **Conferências**. Porto Alegre: SAA, 1992. p. 176-85.

SILVA, N. ; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2.ed. rev. ampl. São Paulo: Livraria Varela Ltda., 2001. 317p.

SIMEPAR – SISTEMA DE METEOROLOGIA DO PARANÁ. **Monitoramento e previsão do tempo – Paraná**. Disponível em: <<http://previsao.simepar.br>> Acesso em: 06 jul. 2002.

SOFTSHELL INTERNATIONAL LTD. **ChemWindows. Versão 2.0**. Editor de fórmulas químicas. András Fürst. Philadelphia, PA, 1991. 1 disquete (742 kb.); 5¼ pol.

SPEHAR, C.R.; MONTEIRO, P.M.F. de O.; ZUFFO, N.L. Melhoramento genético da soja na região Centro-Oeste. In: SIMPÓSIO NOS CERRADOS, 1992 Uberaba. **Anais**. Piracicaba. POTAFOS, 1993. p. 229-253.

STROHL, W. A. ; ROUSE, H.; FISHER, B. D. **Microbiologia Ilustrada**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2004. 531p.

TABASHNIK, B. E.; LIU, Y.B.; FINSON, N.; MASSON, L.; HECKEL, D.G. One gene in diamondback moth confers resistance to four bacillus thuringiensis toxins. **Proceedings of the National Academy of Science**. v.94, p.1640-1644, 1997.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. **Fungos em alimentos: ocorrência e detecção**. Campinas: Núcleo de Microbiologia/ITAL, 2001. 82p.

TAVARES, J. C. **Microbiologia e farmacologia simplificada**. Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter Ltda, 2002. 106p.

THEIL, P. G.; MARASAS, W. F.; SYDENHAM, E.W.; SHEPARD, G.S.; GELDERBLOM, W.C.A. The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn for human and animal health. **Mycopathology**. v. 117, p.3-4, 1992.

TORRES, E. A. F. S. **Alimentos do milênio**: a importância dos transgênicos, funcionais e fitoterápicos para a saúde. São Paulo. Signus Editora, 2002, 94p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2002. 827p.

TRENK, H.L.; HARTMAN, P.A. Effects of moisture content and temperature on aflatoxin production in corn. **Applied Microbiology**. Baltimore: 19(5): 78-84, 1970.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ – Sistemas de Bibliotecas. **Normas para apresentação de documentos científicos**. Curitiba: Editora UFPR, 2000. 10v.

URLACA, J. L.; MARAZUELA, M. D.; MORENO-BONDI, M.C. Analysis for zearalenone and  $\alpha$ -zearalenone in cereals and swine feed using accelerated solvent extraction and liquid chromatography with fluorescence detection. **Analytica Chimica Acta**. London, v.524, n.1/2, p.175-183, oct 2004.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Agriculture**: data and statistics. Disponível em: <[http://www.usda.gov./ups/postal/lut/p/\\_s.7\\_0\\_A/7\\_010B?navid=DATASTATISTICS/parentnov=Agriculture\\_novtypes=RT](http://www.usda.gov./ups/postal/lut/p/_s.7_0_A/7_010B?navid=DATASTATISTICS/parentnov=Agriculture_novtypes=RT)> Acesso em: 20 mai. 2004.

VIANA, P. A.; CRUZ, I; WAQUIL, J.M. Cultivo do milho: pragas iniciais. **Comunicado Técnico**. Sete Lagoas, n.59, p.1-13, 2002.

VIRTUAL CHEMBOOK. **Fatty acids**. Disponível em: <<http://www.elmhurst.edu/~chem/vchembook/index.html>> Acesso em: 18 out. 2004.

YUAN, L.; YANGUN, Z.; JIANJUN, C; HAIYAN, C. Intraspecific reponses in crop growth and yield of 20 soybean cultivars to enhanced ultraviolet-B radiation Ander field conditions, **Field Crops Research**, Ámsterdam, v. 78, n. 1, p. 1-8, oct, 2002.

ZANCAN, G. Plantas transgênicas: riscos e benefícios. In: **Fórum dos transgênicos**. Disponível em: <[http:// www.sbpcnet.org.br](http://www.sbpcnet.org.br)> Acesso em: 10 set. 2000.

ZARDO, V. R. **Boletim do milho**: agosto 2004. Curitiba: SEAB/DERAL, 2004. 2p.

## ANEXOS

Os anexos estão numerados de 1 a 18, o tratamento estatístico resultou em 182 anexos. Caso esteja interessado(a) no tratamento estatístico completo deve entrar em contato com o autor via endereço eletrônico: [cancado@onda.com.br](mailto:cancado@onda.com.br).

### ANEXO 1 - LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (*Zea Mays* Linné) PARA TEORES DE UMIDADE, ATIVIDADE DE ÁGUA E CINZAS NAS SEMENTES CONVENCIONAIS E GENETICAMENTE MODIFICADAS

continua

Data file : \_UMTESM\_  
Title : ANALISE FISICO-QUIMICA

Function : PRLIST  
Data case no. 1 to 180

List Of Variables

```
-----
Var Type      Name / Description
 1 NUMERIC TIPO DE MILHO
 2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
 3 NUMERIC AMOSTRAGEM
 4 NUMERIC TU - TEOR DE UMIDADE
 5 NUMERIC AW - TEOR DE ATIVIDADE DE AGUA
 6 NUMERIC CS - TEOR DE CINZAS
```

CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5	6
1	1	0	1	13.9	0.742	4.4
2	1	0	1	13.9	0.741	4.4
3	1	0	1	13.8	0.742	4.4
4	1	0	2	14.1	0.740	4.3
5	1	0	2	14.0	0.740	4.3
6	1	0	2	14.1	0.740	4.3
7	1	0	3	14.1	0.743	4.2
8	1	0	3	14.2	0.743	4.3
9	1	0	3	14.0	0.743	4.3
10	1	0	4	13.9	0.730	4.9
11	1	0	4	13.8	0.730	4.9
12	1	0	4	13.9	0.729	4.9
13	1	0	5	13.8	0.721	4.8
14	1	0	5	13.9	0.721	5.0
15	1	0	5	13.7	0.721	4.8
16	1	0	6	13.7	0.714	4.7
17	1	0	6	13.7	0.720	4.7
18	1	0	6	13.8	0.714	4.7
19	1	0	7	13.9	0.721	4.4
20	1	0	7	13.9	0.721	4.4
21	1	0	7	14.0	0.721	4.1
22	1	0	8	13.6	0.717	4.7
23	1	0	8	13.6	0.718	4.7
24	1	0	8	13.6	0.717	4.7
25	1	0	9	13.7	0.718	4.8
26	1	0	9	13.8	0.722	4.8
27	1	0	9	13.7	0.718	4.8
28	1	0	10	13.7	0.727	3.9
29	1	0	10	13.7	0.727	3.9
30	1	0	10	13.7	0.726	3.9
31	1	30	1	13.8	0.724	3.6
32	1	30	1	13.8	0.724	3.6
33	1	30	1	13.8	0.724	3.5
34	1	30	2	13.9	0.718	3.5
35	1	30	2	13.9	0.718	3.5
36	1	30	2	13.9	0.718	3.5
37	1	30	3	14.0	0.715	5.1
38	1	30	3	14.3	0.720	5.2
39	1	30	3	14.2	0.715	5.1
40	1	30	4	12.9	0.718	5.1
41	1	30	4	13.0	0.718	5.1
42	1	30	4	12.9	0.718	5.1
43	1	30	5	13.8	0.728	5.2
44	1	30	5	13.9	0.728	5.3
45	1	30	5	13.8	0.729	5.1
46	1	30	6	14.1	0.723	3.6

ANEXO 1 - LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (*Zea Mays* Linné) PARA TESTES DE UMIDADE, ATIVIDADE DE ÁGUA E CINZAS NAS SEMENTES CONVENCIONAIS E GENETICAMENTE MODIFICADAS

continuação

CASE	NO.	1	2	3	4	5	6
47	1	30	6	14.0	0.725	3.6	
48	1	30	6	14.1	0.725	3.6	
49	1	30	7	12.9	0.725	5.0	
50	1	30	7	12.9	0.725	5.0	
51	1	30	7	12.9	0.725	5.2	
52	1	30	8	14.2	0.724	4.1	
53	1	30	8	14.2	0.724	4.1	
54	1	30	8	14.1	0.724	4.0	
55	1	30	9	13.7	0.716	5.2	
56	1	30	9	13.5	0.716	5.1	
57	1	30	9	13.7	0.716	5.1	
58	1	30	10	13.9	0.718	4.9	
59	1	30	10	13.9	0.718	4.9	
60	1	30	10	13.9	0.718	4.9	
61	1	60	1	13.2	0.718	4.3	
62	1	60	1	13.2	0.718	4.3	
63	1	60	1	13.1	0.718	4.3	
64	1	60	2	13.7	0.740	3.7	
65	1	60	2	13.7	0.740	3.7	
66	1	60	2	13.7	0.741	3.7	
67	1	60	3	13.8	0.716	5.3	
68	1	60	3	13.8	0.716	5.3	
69	1	60	3	13.8	0.716	5.3	
70	1	60	4	15.1	0.720	3.9	
71	1	60	4	15.1	0.720	3.9	
72	1	60	4	14.9	0.720	3.9	
73	1	60	5	13.7	0.729	4.9	
74	1	60	5	13.7	0.729	4.9	
75	1	60	5	13.7	0.728	4.9	
76	1	60	6	13.3	0.719	3.6	
77	1	60	6	13.3	0.719	3.6	
78	1	60	6	13.5	0.719	3.6	
79	1	60	7	13.4	0.722	4.9	
80	1	60	7	13.4	0.722	4.9	
81	1	60	7	13.4	0.723	4.9	
82	1	60	8	13.9	0.732	4.0	
83	1	60	8	13.9	0.732	4.0	
84	1	60	8	13.9	0.732	4.3	
85	1	60	9	13.8	0.731	5.2	
86	1	60	9	13.6	0.731	5.2	
87	1	60	9	13.8	0.731	5.0	
88	1	60	10	13.6	0.718	4.0	
89	1	60	10	13.6	0.718	4.0	
90	1	60	10	13.7	0.718	4.0	
91	2	0	1	14.1	0.755	4.3	
92	2	0	1	14.1	0.755	4.3	
93	2	0	1	14.1	0.755	4.3	
94	2	0	2	14.0	0.756	4.7	
95	2	0	2	14.0	0.755	4.7	
96	2	0	2	14.0	0.756	4.7	
97	2	0	3	13.8	0.751	4.3	
98	2	0	3	13.8	0.751	4.3	
99	2	0	3	13.8	0.751	4.3	
100	2	0	4	13.2	0.748	4.2	
101	2	0	4	13.0	0.748	4.2	
102	2	0	4	13.3	0.748	4.1	
103	2	0	5	13.5	0.790	4.3	
104	2	0	5	13.5	0.790	4.2	
105	2	0	5	13.5	0.791	4.5	
106	2	0	6	13.3	0.759	4.7	
107	2	0	6	13.3	0.749	4.7	
108	2	0	6	13.3	0.759	4.7	
109	2	0	7	14.0	0.772	4.4	
110	2	0	7	14.1	0.772	4.4	
111	2	0	7	14.0	0.777	4.4	
112	2	0	8	13.8	0.759	4.4	
113	2	0	8	13.8	0.759	4.6	
114	2	0	8	13.8	0.759	4.4	
115	2	0	9	12.9	0.755	4.7	
116	2	0	9	12.9	0.755	4.7	
117	2	0	9	12.9	0.755	4.7	
118	2	0	10	13.9	0.782	4.3	
119	2	0	10	13.9	0.782	4.3	
120	2	0	10	13.9	0.782	4.3	
121	2	30	1	14.0	0.757	4.7	
122	2	30	1	14.0	0.757	4.7	
123	2	30	1	14.0	0.756	4.7	
124	2	30	2	13.8	0.756	4.7	
125	2	30	2	13.8	0.756	4.8	
126	2	30	2	13.8	0.756	4.9	
127	2	30	3	13.4	0.755	4.1	
128	2	30	3	13.4	0.755	4.1	
129	2	30	3	13.5	0.755	4.1	
130	2	30	4	13.6	0.789	4.0	
131	2	30	4	13.6	0.789	4.0	
132	2	30	4	13.7	0.788	4.1	
133	2	30	5	14.2	0.754	4.1	
134	2	30	5	14.2	0.754	4.1	
135	2	30	5	14.2	0.754	4.6	
136	2	30	6	13.3	0.782	4.3	
137	2	30	6	13.1	0.782	4.3	
138	2	30	6	13.3	0.782	4.3	

ANEXO 1 - LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (*Zea Mays* Linné) PARA TESTES DE UMIDADE, ATIVIDADE DE ÁGUA E CINZAS NAS SEMENTES CONVENCIONAIS E GENETICAMENTE MODIFICADAS

conclusão

CASE							
NO.	1	2	3	4	5	6	
139	2	30	7	14.4	0.749	4.1	
140	2	30	7	14.4	0.749	4.1	
141	2	30	7	14.5	0.749	4.1	
142	2	30	8	12.9	0.746	4.2	
143	2	30	8	12.9	0.746	4.2	
144	2	30	8	12.9	0.747	4.2	
145	2	30	9	14.0	0.759	4.1	
146	2	30	9	14.0	0.759	4.1	
147	2	30	9	14.0	0.759	4.1	
148	2	30	10	13.9	0.775	4.3	
149	2	30	10	13.9	0.755	4.3	
150	2	30	10	13.9	0.774	4.3	
151	2	60	1	14.1	0.756	4.7	
152	2	60	1	14.1	0.758	4.7	
153	2	60	1	14.0	0.756	4.7	
154	2	60	2	13.9	0.761	4.4	
155	2	60	2	13.9	0.761	4.4	
156	2	60	2	13.9	0.762	4.4	
157	2	60	3	14.0	0.771	4.9	
158	2	60	3	14.0	0.771	4.9	
159	2	60	3	14.0	0.771	4.9	
160	2	60	4	14.2	0.759	4.0	
161	2	60	4	14.2	0.759	4.0	
162	2	60	4	14.2	0.755	4.0	
163	2	60	5	13.8	0.762	4.8	
164	2	60	5	13.8	0.762	4.8	
165	2	60	5	13.8	0.762	4.8	
166	2	60	6	14.6	0.763	3.8	
167	2	60	6	14.6	0.762	3.8	
168	2	60	6	14.6	0.763	3.8	
169	2	60	7	13.9	0.781	4.7	
170	2	60	7	13.9	0.781	4.7	
171	2	60	7	13.9	0.781	4.7	
172	2	60	8	13.6	0.779	4.9	
173	2	60	8	13.6	0.776	4.9	
174	2	60	8	13.7	0.776	4.8	
175	2	60	9	14.5	0.777	4.3	
176	2	60	9	14.6	0.777	4.5	
177	2	60	9	14.5	0.779	4.5	
178	2	60	10	14.0	0.774	4.3	
179	2	60	10	14.0	0.774	4.3	
180	2	60	10	14.0	0.774	4.3	

## ANEXO 2 – RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE TEOR DE UMIDADE DAS AMOSTRAS ESTABELECIDAS

Data file: \_UMTESM\_  
Title: ANALISE FISICO-QUIMICA

Function: ANOVA-1  
Data case no. 1 to 180

One way ANOVA grouped over variable 1 (TIPO DE MILHO)  
with values from 1 to 2.

Variable 4 (TU - TEOR DE UMIDADE)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	1	0.118	0.118	0.708	
Within	178	29.540	0.166		
Total	179	29.658			

Coefficient of Variation = 2.95%

Var. 1	V A R I A B L E Number	No. 4 Sum	Average	SD	SE
1	90.00	1239.400	13.771	0.39	0.04
2	90.00	1244.000	13.822	0.42	0.04
Total	180.00	2483.400	13.797	0.41	0.03
Within				0.41	

Bartlett's test

Chi-square = 0.395  
Number of Degrees of Freedom = 1  
Approximate significance = 0.000



### ANEXO 3 - RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE TEOR DE UMIDADE COM REFERÊNCIA NO PERÍODO DE ARMAZENAGEM DO GRÃO DE MILHO CONVENCIONAL

Data file: \_UMTESM\_  
Title: ANALISE FISICO-QUIMICA

Function: ANOVA-1  
Data case no. 1 to 90

One way ANOVA grouped over variable 2 (DIAS DE ARMAZENAMENTO)  
with values from 0 to 60.

Variable 4 (TU - TEOR DE UMIDADE)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	2	0.216	0.108	0.693	
Within	87	13.569	0.156		
Total	89	13.785			

Coefficient of Variation = 2.87%

Var. 2	V A R I A B L E Number	No. 4 Sum	Average	SD	SE
0	30.00	415.200	13.840	0.16	0.07
30	30.00	411.900	13.730	0.45	0.07
60	30.00	412.300	13.743	0.49	0.07
Total	90.00	1239.400	13.771	0.39	0.04
Within				0.39	

Bartlett's test

Chi-square = 30.928  
Number of Degrees of Freedom = 2  
Approximate significance = 0.000

# ANEXO 4 - RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE TEOR DE UMIDADE COM REFERÊNCIA NO PERÍODO DE ARMAZENAGEM DO GRÃO DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO

Data file: \_UMTESM\_  
Title: ANALISE FISICO-QUIMICA

Function: ANOVA-1  
Data case no. 91 to 180

One way ANOVA grouped over variable 2 (DIAS DE ARMAZENAMENTO)  
with values from 0 to 60.

Variable 4 (TU - TEOR DE UMIDADE)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	2	2.776	1.388	9.304	0.0002
Within	87	12.979	0.149		
Total	89	15.756			

Coefficient of Variation = 2.79%

Var. 2	VARIABLE Number	No. 4 Sum	Average	SD	SE
0	30.00	409.500	13.650	0.40	0.07
30	30.00	412.600	13.753	0.45	0.07
60	30.00	421.900	14.063	0.30	0.07
Total	90.00	1244.000	13.822	0.42	0.04
Within				0.39	

Bartlett's test

Chi-square = 4.815  
Number of Degrees of Freedom = 2  
Approximate significance = 0.090

## ANEXO 5 – RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA DAS AMOSTRAS ESTABELECIDAS

Data file: \_UMTESM\_  
Title: ANALISE FISICO-QUIMICA

Function: ANOVA-1  
Data case no. 1 to 180

One way ANOVA grouped over variable 1 (TIPO DE MILHO)  
with values from 1 to 2.

Variable 5 (AW - TEOR DE ATIVIDADE DE AGUA)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	1	0.071	0.071	629.234	0.0000
Within	178	0.020	0.000		
Total	179	0.090			

Coefficient of Variation = 1.42%

Var. 1	V A R I A B L E Number	No. 5 Sum	Average	SD	SE
1	90.00	65.200	0.724	0.01	0.00
2	90.00	68.763	0.764	0.01	0.00
Total	180.00	133.963	0.744	0.02	0.00
Within				0.01	

Bartlett's test

Chi-square = 16.405  
Number of Degrees of Freedom = 1  
Approximate significance = 0.000

## ANEXO 6 – RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA COM REFERÊNCIA NO PERÍODO DE ARMAZENAGEM DO GRÃO DE MILHO CONVENCIONAL

Data file: \_UMTESM\_  
Title: ANALISE FISICO-QUIMICA

Function: ANOVA-1  
Data case no. 1 to 90

One way ANOVA grouped over variable 2 (DIAS DE ARMAZENAMENTO)  
with values from 0 to 60.

Variable 5 (AW - TEOR DE ATIVIDADE DE AGUA)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	2	0.001	0.000	4.969	0.0090
Within	87	0.005	0.000		
Total	89	0.006			

Coefficient of Variation = 1.07%

Var. 2	V A R I A B L E Number	No. 5 Sum	Average	SD	SE
0	30.00	21.827	0.728	0.01	0.00
30	30.00	21.637	0.721	0.00	0.00
60	30.00	21.736	0.725	0.01	0.00
Total	90.00	65.200	0.724	0.01	0.00
Within				0.01	

Bartlett's test

Chi-square = 19.348  
Number of Degrees of Freedom = 2  
Approximate significance = 0.000

## ANEXO 7 – RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE TEOR DE ATIVIDADE DE ÁGUA COM REFERÊNCIA NO PERÍODO DE ARMAZENAGEM DO GRÃO DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO

Data file: \_UMTESM\_  
Title: ANALISE FISICO-QUIMICA

Function: ANOVA-1  
Data case no. 91 to 180

One way ANOVA grouped over variable 2 (DIAS DE ARMAZENAMENTO)  
with values from 0 to 60.

Variable 5 (AW - TEOR DE ATIVIDADE DE AGUA)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	2	0.001	0.000	2.487	0.0891
Within	87	0.013	0.000		
Total	89	0.014			

Coefficient of Variation = 1.62%

Var. 2	V A R I A B L E Number	No. 5 Sum	Average	SD	SE
0	30.00	22.876	0.763	0.01	0.00
30	30.00	22.844	0.761	0.01	0.00
60	30.00	23.043	0.768	0.01	0.00
Total	90.00	68.763	0.764	0.01	0.00
Within				0.01	

Bartlett's test

Chi-square = 7.045  
Number of Degrees of Freedom = 2  
Approximate significance = 0.030

## ANEXO 8 – RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE TEOR DE CINZAS DAS AMOSTRAS ESTABELECIDAS

Data file: \_UMTESM\_  
Title: ANALISE FISICO-QUIMICA

Function: ANOVA-1  
Data case no. 1 to 180

One way ANOVA grouped over variable 1 (TIPO DE MILHO)  
with values from 1 to 2.

Variable 6 (CS - TEOR DE CINZAS)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	1	0.214	0.214	1.039	0.3094
Within	178	36.578	0.205		
Total	179	36.792			

Coefficient of Variation = 10.21%

Var. 1	V A R I A B L E Number	No. 6 Sum	Average	SD	SE
1	90.00	402.700	4.474	0.57	0.05
2	90.00	396.500	4.406	0.29	0.05
Total	180.00	799.200	4.440	0.45	0.03
Within				0.45	

Bartlett's test

Chi-square = 36.925  
Number of Degrees of Freedom = 1  
Approximate significance = 0.000

## ANEXO 9 – RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE TEOR DE CINZAS COM REFERÊNCIA NO PERÍODO DE ARMAZENAGEM DO GRÃO DE MILHO CONVENCIONAL

Data file: \_UMTESM\_  
Title: ANALISE FISICO-QUIMICA

Function: ANOVA-1  
Data case no. 1 to 90

One way ANOVA grouped over variable 2 (DIAS DE ARMAZENAMENTO)  
with values from 0 to 60.

Variable 6 (CS - TEOR DE CINZAS)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	2	0.376	0.188	0.572	
Within	87	28.595	0.329		
Total	89	28.971			

Coefficient of Variation = 12.81%

Var. 2	V A R I A B L E Number	No. 6 Sum	Average	SD	SE
0	30.00	135.400	4.513	0.32	0.10
30	30.00	135.800	4.527	0.72	0.10
60	30.00	131.500	4.383	0.60	0.10
Total	90.00	402.700	4.474	0.57	0.06
Within				0.57	

Bartlett's test

Chi-square = 17.130  
Number of Degrees of Freedom = 2  
Approximate significance = 0.000

# ANEXO 10 – RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE TEOR DE CINZAS COM REFERÊNCIA NO PERÍODO DE ARMAZENAGEM DO GRÃO DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO

Data file: \_UMTESM\_  
Title: ANALISE FISICO-QUIMICA

Function: ANOVA-1  
Data case no. 91 to 180

One way ANOVA grouped over variable 2 (DIAS DE ARMAZENAMENTO)  
with values from 0 to 60.

Variable 6 (CS - TEOR DE CINZAS)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	2	0.644	0.322	4.020	0.0214
Within	87	6.964	0.080		
Total	89	7.607			

Coefficient of Variation = 6.42%

Var. 2	V A R I A B L E Number	No. 6 Sum	Average	SD	SE
0	30.00	133.100	4.437	0.20	0.05
30	30.00	128.700	4.290	0.26	0.05
60	30.00	134.700	4.490	0.36	0.05
Total	90.00	396.500	4.406	0.29	0.03
Within				0.28	

Bartlett's test

Chi-square = 10.310  
Number of Degrees of Freedom = 2  
Approximate significance = 0.006



# ANEXO 11 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (Zea mays Linné) PARA ANÁLISES DE MICROBIOLOGIA

continua

Data file : \_MMBTEST\_  
Title : ANALISE MICROBIOLOGICA

Function : PRLIST  
Data case no. 1 to 180

## List Of Variables

```
-----
Var Type      Name / Description
1 NUMERIC TIPO DE MILHO
2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
3 NUMERIC AMOSTRAGEM
4 NUMERIC TPC log (ufc/g)
5 NUMERIC Y-MSC log (ufc/g)
6 NUMERIC FUNGITox log (ufc/g)
7 NUMERIC NMPCF/Ec log (nmp ec/g)
8 NUMERIC SALMONELLA (ausente/25g)
```

CASE	NO.	1	2	3	4	5	6	7	8
	1	1	0	1	3.46	2.92	2.03	0.00	0.00
	2	1	0	1	3.47	2.90	1.99	0.00	0.00
	3	1	0	1	3.46	2.90	2.03	0.00	0.00
	4	1	0	2	3.56	2.88	1.85	0.00	0.00
	5	1	0	2	3.56	2.88	1.85	0.00	0.00
	6	1	0	2	3.75	2.11	1.88	0.00	0.00
	7	1	0	3	3.64	3.00	0.00	0.00	0.00
	8	1	0	3	3.68	3.00	0.00	0.00	0.00
	9	1	0	3	3.64	3.04	0.00	0.00	0.00
	10	1	0	4	3.68	2.73	0.00	0.00	0.00
	11	1	0	4	3.68	2.73	0.00	0.00	0.00
	12	1	0	4	3.68	2.78	0.00	0.00	0.00
	13	1	0	5	3.67	2.72	1.97	0.00	0.00
	14	1	0	5	3.67	2.77	1.99	0.00	0.00
	15	1	0	5	3.67	2.77	1.99	0.00	0.00
	16	1	0	6	3.35	2.49	1.72	0.00	0.00
	17	1	0	6	3.60	2.49	1.72	0.00	0.00
	18	1	0	6	3.60	2.49	1.70	0.00	0.00
	19	1	0	7	3.55	2.11	1.48	0.00	0.00
	20	1	0	7	3.58	2.11	1.48	0.00	0.00
	21	1	0	7	3.59	2.08	1.48	0.00	0.00
	22	1	0	8	3.47	2.23	0.00	0.00	0.00
	23	1	0	8	3.44	2.22	0.00	0.00	0.00
	24	1	0	8	3.49	2.23	0.00	0.00	0.00
	25	1	0	9	3.47	2.93	0.00	0.00	0.00
	26	1	0	9	3.47	2.90	0.00	0.00	0.00
	27	1	0	9	3.55	2.92	0.00	0.00	0.00
	28	1	0	10	3.57	2.98	1.79	0.00	0.00
	29	1	0	10	3.66	2.98	1.79	0.00	0.00
	30	1	0	10	3.58	2.98	1.78	0.00	0.00

**ANEXO 11 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (Zea mays Linné) PARA  
ANÁLISES DE MICROBIOLOGIA**

continuação

CASE	NO.	1	2	3	4	5	6	7	8
	31	1	30	1	3.57	2.85	2.54	0.00	0.00
	32	1	30	1	3.54	2.88	2.54	0.00	0.00
	33	1	30	1	3.55	2.85	2.54	0.00	0.00
	34	1	30	2	3.58	2.98	2.10	0.00	0.00
	35	1	30	2	3.58	2.98	2.10	0.00	0.00
	36	1	30	2	3.58	2.98	2.19	0.00	0.00
	37	1	30	3	3.71	3.06	0.00	0.00	0.00
	38	1	30	3	3.70	3.06	0.00	0.00	0.00
	39	1	30	3	3.44	3.00	0.00	0.00	0.00
	40	1	30	4	3.70	2.80	2.58	0.00	0.00
	41	1	30	4	3.71	2.81	2.58	0.00	0.00
	42	1	30	4	3.71	2.80	2.55	0.00	0.00
	43	1	30	5	3.67	2.85	2.72	0.00	0.00
	44	1	30	5	3.67	2.85	2.71	0.00	0.00
	45	1	30	5	3.66	2.85	2.78	0.00	0.00
	46	1	30	6	3.59	2.93	1.94	0.00	0.00
	47	1	30	6	3.59	2.93	1.94	0.00	0.00
	48	1	30	6	3.59	2.90	1.94	0.00	0.00
	49	1	30	7	3.61	2.56	2.04	0.00	0.00
	50	1	30	7	3.60	2.55	2.04	0.00	0.00
	51	1	30	7	3.59	2.55	2.04	0.00	0.00
	52	1	30	8	3.58	2.30	0.00	0.00	0.00
	53	1	30	8	3.58	2.28	0.00	0.00	0.00
	54	1	30	8	3.58	2.30	0.00	0.00	0.00
	55	1	30	9	3.54	2.97	2.41	0.00	0.00
	56	1	30	9	3.48	2.97	2.41	0.00	0.00
	57	1	30	9	3.47	2.99	2.41	0.00	0.00
	58	1	30	10	3.66	3.16	2.51	0.00	0.00
	59	1	30	10	3.66	3.10	2.51	0.00	0.00
	60	1	30	10	3.67	3.16	2.51	0.00	0.00
	61	1	60	1	3.49	2.57	2.43	0.00	0.00
	62	1	60	1	3.44	2.51	2.43	0.00	0.00
	63	1	60	1	3.49	2.51	2.43	0.00	0.00
	64	1	60	2	3.51	3.09	2.54	0.00	0.00
	65	1	60	2	3.55	3.09	2.54	0.00	0.00
	66	1	60	2	3.51	3.56	2.54	0.00	0.00
	67	1	60	3	3.63	3.16	2.34	0.00	0.00
	68	1	60	3	3.63	3.16	2.34	0.00	0.00
	69	1	60	3	3.63	3.20	2.34	0.00	0.00
	70	1	60	4	3.68	2.96	2.94	0.00	0.00
	71	1	60	4	3.68	2.96	2.94	0.00	0.00
	72	1	60	4	3.68	2.99	2.94	0.00	0.00
	73	1	60	5	3.64	2.92	3.10	0.00	0.00
	74	1	60	5	3.24	2.92	3.10	0.00	0.00
	75	1	60	5	3.64	2.92	3.21	0.00	0.00
	76	1	60	6	3.61	2.98	2.61	0.00	0.00
	77	1	60	6	3.61	2.98	2.61	0.00	0.00
	78	1	60	6	3.61	2.98	2.66	0.00	0.00

**ANEXO 11 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (Zea mays Linné) PARA  
ANÁLISES DE MICROBIOLOGIA**

continuação

CASE	NO.	1	2	3	4	5	6	7	8
	79	1	60	7	3.55	2.67	2.43	0.00	0.00
	80	1	60	7	3.15	2.67	2.43	0.00	0.00
	81	1	60	7	3.37	2.66	2.43	0.00	0.00
	82	1	60	8	3.60	2.26	2.54	0.00	0.00
	83	1	60	8	3.60	2.26	2.54	0.00	0.00
	84	1	60	8	3.60	2.22	2.55	0.00	0.00
	85	1	60	9	3.57	3.12	2.81	0.00	0.00
	86	1	60	9	3.56	3.21	2.81	0.00	0.00
	87	1	60	9	3.68	3.11	2.80	0.00	0.00
	88	1	60	10	3.57	3.11	2.96	0.00	0.00
	89	1	60	10	3.57	3.11	2.96	0.00	0.00
	90	1	60	10	3.49	3.11	2.96	0.00	0.00
	91	2	0	1	2.15	1.57	1.00	0.00	0.00
	92	2	0	1	2.00	1.63	1.00	0.00	0.00
	93	2	0	1	2.00	1.57	1.00	0.00	0.00
	94	2	0	2	2.00	1.46	0.85	0.00	0.00
	95	2	0	2	2.00	1.44	0.85	0.00	0.00
	96	2	0	2	2.11	1.46	0.88	0.00	0.00
	97	2	0	3	2.08	1.18	0.00	0.00	0.00
	98	2	0	3	2.09	1.18	0.00	0.00	0.00
	99	2	0	3	2.08	1.18	0.00	0.00	0.00
	100	2	0	4	1.90	1.00	0.00	0.00	0.00
	101	2	0	4	1.90	1.00	0.00	0.00	0.00
	102	2	0	4	1.90	1.00	0.00	0.00	0.00
	103	2	0	5	1.95	1.26	1.00	0.00	0.00
	104	2	0	5	1.87	1.33	1.00	0.00	0.00
	105	2	0	5	1.94	1.27	1.00	0.00	0.00
	106	2	0	6	2.10	1.41	0.70	0.00	0.00
	107	2	0	6	2.10	1.40	0.70	0.00	0.00
	108	2	0	6	2.08	1.38	0.78	0.00	0.00
	109	2	0	7	1.94	1.46	0.48	0.00	0.00
	110	2	0	7	1.98	1.46	0.48	0.00	0.00
	111	2	0	7	1.94	1.46	0.44	0.00	0.00
	112	2	0	8	2.01	1.52	0.00	0.00	0.00
	113	2	0	8	2.01	1.52	0.00	0.00	0.00
	114	2	0	8	2.11	1.55	0.00	0.00	0.00
	115	2	0	9	2.00	1.57	0.00	0.00	0.00
	116	2	0	9	2.00	1.57	0.00	0.00	0.00
	117	2	0	9	1.89	1.57	0.00	0.00	0.00
	118	2	0	10	1.96	1.59	0.78	0.00	0.00
	119	2	0	10	1.99	1.58	0.79	0.00	0.00
	120	2	0	10	1.97	1.67	0.79	0.00	0.00
	121	2	30	1	2.36	1.23	1.54	0.00	0.00
	122	2	30	1	2.35	1.23	1.54	0.00	0.00
	123	2	30	1	2.36	1.23	1.54	0.00	0.00
	124	2	30	2	2.15	1.00	1.41	0.00	0.00
	125	2	30	2	2.15	1.00	1.41	0.00	0.00

**ANEXO 11 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (Zea mays Linné) PARA  
ANÁLISES DE MICROBIOLOGIA**

continuação

CASE								
NO.	1	2	3	4	5	6	7	8
126	2	30	2	2.11	1.00	1.41	0.00	0.00
127	2	30	3	2.22	1.34	0.00	0.00	0.00
128	2	30	3	2.21	0.33	0.00	0.00	0.00
129	2	30	3	2.18	1.34	0.00	0.00	0.00
130	2	30	4	1.94	1.11	0.90	0.00	0.00
131	2	30	4	1.94	1.11	0.91	0.00	0.00
132	2	30	4	1.91	1.11	0.90	0.00	0.00
133	2	30	5	1.83	1.04	1.72	0.00	0.00
134	2	30	5	1.83	1.04	1.72	0.00	0.00
135	2	30	5	1.83	1.04	1.72	0.00	0.00
136	2	30	6	1.94	1.28	0.90	0.00	0.00
137	2	30	6	1.99	1.28	0.97	0.00	0.00
138	2	30	6	1.87	1.28	0.90	0.00	0.00
139	2	30	7	1.80	1.23	1.00	0.00	0.00
140	2	30	7	1.80	1.23	1.00	0.00	0.00
141	2	30	7	1.88	1.23	1.00	0.00	0.00
142	2	30	8	2.11	1.44	0.00	0.00	0.00
143	2	30	8	2.11	1.33	0.00	0.00	0.00
144	2	30	8	2.12	1.37	1.40	0.00	0.00
145	2	30	9	2.06	1.36	1.45	0.00	0.00
146	2	30	9	2.08	1.36	1.60	0.00	0.00
147	2	30	9	2.00	1.36	1.51	0.00	0.00
148	2	30	10	2.13	1.28	1.51	0.00	0.00
149	2	30	10	2.13	1.22	1.55	0.00	0.00
150	2	30	10	2.18	1.29	1.51	0.00	0.00
151	2	60	1	2.49	1.39	2.14	0.00	0.00
152	2	60	1	2.49	1.36	2.22	0.00	0.00
153	2	60	1	2.44	1.36	2.15	0.00	0.00
154	2	60	2	2.25	1.49	2.36	0.00	0.00
155	2	60	2	2.25	1.49	2.39	0.00	0.00
156	2	60	2	2.25	1.49	2.39	0.00	0.00
157	2	60	3	2.34	1.45	1.34	0.00	0.00
158	2	60	3	2.37	1.46	1.33	0.00	0.00
159	2	60	3	2.32	1.44	1.33	0.00	0.00
160	2	60	4	2.18	1.45	1.94	0.00	0.00
161	2	60	4	2.18	1.52	1.94	0.00	0.00
162	2	60	4	2.19	1.52	1.94	0.00	0.00
163	2	60	5	2.20	1.53	2.10	0.00	0.00
164	2	60	5	2.20	1.53	2.10	0.00	0.00
165	2	60	5	2.16	1.44	2.10	0.00	0.00
166	2	60	6	2.43	1.57	1.61	0.00	0.00
167	2	60	6	2.43	1.57	1.61	0.00	0.00
168	2	60	6	2.74	1.57	1.68	0.00	0.00
169	2	60	7	2.27	1.00	1.43	0.00	0.00
170	2	60	7	2.28	1.00	1.43	0.00	0.00
171	2	60	7	2.27	1.11	1.44	0.00	0.00
172	2	60	8	2.29	0.90	1.54	0.00	0.00

ANEXO 11 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
 AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (Zea mays Linné) PARA  
 ANÁLISES DE MICROBIOLOGIA

conclusão

CASE								
NO.	1	2	3	4	5	6	7	8
173	2	60	8	2.29	0.98	1.54	0.00	0.00
174	2	60	8	2.17	0.99	1.54	0.00	0.00
175	2	60	9	2.32	0.70	1.81	0.00	0.00
176	2	60	9	2.31	0.71	1.81	0.00	0.00
177	2	60	9	2.28	0.70	1.81	0.00	0.00
178	2	60	10	2.25	1.43	1.96	0.00	0.00
179	2	60	10	2.25	1.43	1.96	0.00	0.00
180	2	60	10	2.25	1.48	1.97	0.00	0.00

# ANEXO 12 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (Zea mays Linné) PARA ANÁLISES DE MICOTOXICOLOGIA

continua

Data file : \_TLCTEST\_

Title : ANALISE DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA - TLC

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 180

List Of Variables

```
-----
Var Type      Name / Description
 1 NUMERIC TIPO DE MILHO
 2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
 3 NUMERIC AMOSTRAGEM
 4 NUMERIC AFLATOXINA log (ppb)
 5 NUMERIC FUMONISIN log (ppm)
```

CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5
1	1	0	1	1.30	1.00
2	1	0	1	1.30	1.00
3	1	0	1	1.30	1.00
4	1	0	2	1.34	1.17
5	1	0	2	1.34	1.12
6	1	0	2	1.34	1.24
7	1	0	3	1.40	1.08
8	1	0	3	1.40	1.16
9	1	0	3	1.40	1.08
10	1	0	4	1.20	1.04
11	1	0	4	1.20	1.04
12	1	0	4	1.20	1.04
13	1	0	5	1.65	1.26
14	1	0	5	1.65	1.26
15	1	0	5	1.65	1.22
16	1	0	6	1.26	1.78
17	1	0	6	1.26	1.78
18	1	0	6	1.26	1.78
19	1	0	7	1.23	1.34
20	1	0	7	1.23	1.27
21	1	0	7	1.23	1.39
22	1	0	8	1.67	1.23
23	1	0	8	1.67	1.23
24	1	0	8	1.67	1.23
25	1	0	9	1.18	1.49
26	1	0	9	1.18	1.49
27	1	0	9	1.18	1.49
28	1	0	10	1.11	1.08
29	1	0	10	1.11	1.08
30	1	0	10	1.11	1.08
31	1	30	1	1.56	1.00
32	1	30	1	1.56	1.00
33	1	30	1	1.57	1.00
34	1	30	2	1.88	1.40
35	1	30	2	1.87	1.40
36	1	30	2	1.87	1.40
37	1	30	3	1.75	1.54
38	1	30	3	1.75	1.54
39	1	30	3	1.75	1.61
40	1	30	4	1.80	1.32
41	1	30	4	1.83	1.27
42	1	30	4	1.83	1.29
43	1	30	5	1.91	1.26
44	1	30	5	1.94	1.26
45	1	30	5	1.94	1.26
46	1	30	6	1.83	0.95
47	1	30	6	1.83	0.95
48	1	30	6	1.83	0.95
49	1	30	7	1.76	1.33
50	1	30	7	1.76	1.41
51	1	30	7	1.77	1.32
52	1	30	8	1.89	1.32
53	1	30	8	1.68	1.51
54	1	30	8	1.89	1.19
55	1	30	9	1.81	1.51
56	1	30	9	1.80	1.62
57	1	30	9	1.80	1.57
58	1	30	10	1.97	1.11
59	1	30	10	1.97	1.00
60	1	30	10	1.97	1.28
61	1	60	1	2.06	1.00
62	1	60	1	2.06	1.00
63	1	60	1	2.06	0.95
64	1	60	2	2.03	1.46
65	1	60	2	2.03	1.46
66	1	60	2	2.03	1.44

**ANEXO 12 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (Zea mays Linné) PARA  
ANÁLISES DE MICOTOXICOLOGIA**

continuação

CASE										
NO.	1	2	3	4	5					
67	1	60	3	2.10	1.62	115	2	0	9	0.00 0.00
68	1	60	3	2.10	1.67	116	2	0	9	0.00 0.00
69	1	60	3	2.21	1.63	117	2	0	9	0.00 0.00
70	1	60	4	2.09	1.92	118	2	0	10	0.00 0.00
71	1	60	4	2.09	1.92	119	2	0	10	0.00 0.00
72	1	60	4	2.15	1.92	120	2	0	10	0.00 0.00
73	1	60	5	2.13	1.26	121	2	30	1	0.67 0.00
74	1	60	5	2.13	1.26	122	2	30	1	0.97 0.00
75	1	60	5	2.13	1.04	123	2	30	1	0.95 0.00
76	1	60	6	2.09	1.89	124	2	30	2	1.04 0.00
77	1	60	6	2.09	1.23	125	2	30	2	1.04 0.00
78	1	60	6	2.11	1.51	126	2	30	2	1.01 0.00
79	1	60	7	2.17	1.26	127	2	30	3	0.95 0.00
80	1	60	7	2.16	1.11	128	2	30	3	0.95 0.00
81	1	60	7	2.14	1.33	129	2	30	3	0.99 0.00
82	1	60	8	2.10	1.22	130	2	30	4	0.00 0.00
83	1	60	8	2.10	1.19	131	2	30	4	0.00 0.00
84	1	60	8	2.10	1.25	132	2	30	4	0.00 0.00
85	1	60	9	2.12	1.51	133	2	30	5	1.00 0.00
86	1	60	9	2.12	1.52	134	2	30	5	1.00 0.00
87	1	60	9	2.61	1.55	135	2	30	5	1.00 0.00
88	1	60	10	2.12	1.34	136	2	30	6	0.00 0.00
89	1	60	10	2.11	1.33	137	2	30	6	0.00 0.00
90	1	60	10	2.12	1.33	138	2	30	6	0.00 0.00
91	2	0	1	0.00	0.00	139	2	30	7	0.99 0.00
92	2	0	1	0.00	0.00	140	2	30	7	0.95 0.00
93	2	0	1	0.00	0.00	141	2	30	7	0.95 0.00
94	2	0	2	0.00	0.00	142	2	30	8	1.18 0.00
95	2	0	2	0.00	0.00	143	2	30	8	1.18 0.00
96	2	0	2	0.00	0.00	144	2	30	8	1.18 0.00
97	2	0	3	0.00	0.00	145	2	30	9	1.23 0.00
98	2	0	3	0.00	0.00	146	2	30	9	1.18 0.00
99	2	0	3	0.00	0.00	147	2	30	9	1.23 0.00
100	2	0	4	0.00	0.00	148	2	30	10	0.00 0.00
101	2	0	4	0.00	0.00	149	2	30	10	0.00 0.00
102	2	0	4	0.00	0.00	150	2	30	10	0.00 0.00
103	2	0	5	0.00	0.00	151	2	60	1	0.95 0.00
104	2	0	5	0.00	0.00	152	2	60	1	0.95 0.00
105	2	0	5	0.00	0.00	153	2	60	1	0.95 0.00
106	2	0	6	0.00	0.00	154	2	60	2	1.04 0.00
107	2	0	6	0.00	0.00	155	2	60	2	1.00 0.00
108	2	0	6	0.00	0.00	156	2	60	2	1.04 0.00
109	2	0	7	0.00	0.00	157	2	60	3	0.98 0.00
110	2	0	7	0.00	0.00	158	2	60	3	0.97 0.00
111	2	0	7	0.00	0.00	159	2	60	3	0.94 0.00
112	2	0	8	0.00	0.00	160	2	60	4	0.00 0.00
113	2	0	8	0.00	0.00	161	2	60	4	0.00 0.00
114	2	0	8	0.00	0.00	162	2	60	4	0.00 0.00

ANEXO 12 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
 AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (Zea mays Linné) PARA  
 ANÁLISES DE MICOTOXICOLOGIA

conclusão

CASE					
NO.	1	2	3	4	5
-----					
163	2	60	5	0.00	0.00
164	2	60	5	0.00	0.00
165	2	60	5	0.00	0.00
166	2	60	6	0.00	0.00
167	2	60	6	0.00	0.00
168	2	60	6	0.00	0.00
169	2	60	7	1.04	0.00
170	2	60	7	1.04	0.00
171	2	60	7	1.00	0.00
172	2	60	8	1.15	0.00
173	2	60	8	1.12	0.00
174	2	60	8	1.19	0.00
175	2	60	9	1.13	0.00
176	2	60	9	1.31	0.00
177	2	60	9	1.27	0.00
178	2	60	10	0.00	0.00
179	2	60	10	0.00	0.00
180	2	60	10	0.00	0.00
-----					



# ANEXO 13 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (Zea mays Linné) NAS ANÁLISES DA CONTAMINAÇÃO FORÇADA

continua

Data file : \_CTFTEST\_

Title : Contaminação Forçada por Aspergillus flavus ATCC9643

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 90

List Of Variables

-----  
Var Type      Name / Description

- 1 NUMERIC TIPO DE MILHO
- 2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
- 3 NUMERIC AMOSTRAGEM
- 4 NUMERIC TEOR DE UMIDADE (%)
- 5 NUMERIC TEOR DE ATIVIDADE DE AGUA
- 6 NUMERIC CONTAGEM DE FUNGOS TOXIGENICOS - FUNGITox    log(ufc/g)
- 7 NUMERIC AFLATOXINAS      log(ppb)

CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5	6	7
29	1	30	1	18.7	0.880	5.23	2.11
30	1	30	1	18.6	0.889	5.22	2.10
31	1	30	2	18.5	0.888	5.24	2.27
32	1	30	2	18.4	0.888	5.24	2.27
33	1	30	2	18.5	0.888	5.24	2.27
34	1	30	3	18.4	0.888	5.27	2.25
35	1	30	3	18.4	0.884	5.27	2.28
36	1	30	3	18.4	0.889	5.22	2.21
37	1	40	1	18.7	0.889	5.20	2.42
38	1	40	1	18.7	0.889	5.17	2.42
39	1	40	1	18.7	0.889	5.17	2.42
40	1	40	2	18.6	0.891	5.18	2.49
41	1	40	2	18.6	0.891	5.18	2.48
42	1	40	2	18.4	0.899	5.18	2.44
43	1	40	3	18.3	0.890	5.18	2.43
44	1	40	3	18.5	0.889	5.18	2.43
45	1	40	3	18.3	0.889	5.18	2.44
46	2	0	1	18.4	0.882	0.00	0.00
47	2	0	1	18.4	0.882	0.00	0.00
48	2	0	1	18.4	0.882	0.00	0.00
49	2	0	2	18.3	0.882	0.00	0.00
50	2	0	2	18.3	0.882	0.00	0.00
51	2	0	2	18.3	0.888	0.00	0.00
52	2	0	3	18.3	0.882	0.00	0.00
53	2	0	3	18.3	0.887	0.00	0.00
54	2	0	3	18.3	0.882	0.00	0.00
55	2	10	1	18.6	0.881	3.94	0.30
56	2	10	1	18.6	0.881	3.94	0.33
57	2	10	1	18.6	0.882	3.98	0.35
58	2	10	2	18.5	0.881	3.94	1.08

# ANEXO 13 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE MILHO (Zea mays Linné) NAS ANÁLISES DA CONTAMINAÇÃO FORÇADA conclusão

Data file : \_CTFTEST\_

Title : Contaminação Forçada por Aspergillus flavus ATCC9643

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 90

List Of Variables

```
-----
Var Type      Name / Description
 1 NUMERIC TIPO DE MILHO
 2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
 3 NUMERIC AMOSTRAGEM
 4 NUMERIC TEOR DE UMIDADE (%)
 5 NUMERIC TEOR DE ATIVIDADE DE AGUA
 6 NUMERIC CONTAGEM DE FUNGOS TOXIGENICOS - FUNGITox log(ufc/g)
 7 NUMERIC AFLATOXINAS log(ppb)
```

CASE

NO.	1	2	3	4	5	6	7
59	2	10	2	18.5	0.881	3.94	1.08
60	2	10	2	18.8	0.881	3.94	1.08
61	2	10	3	18.7	0.883	3.96	1.00
62	2	10	3	18.5	0.883	3.97	1.00
63	2	10	3	18.7	0.883	3.97	1.00
64	2	20	1	18.7	0.885	3.95	1.00
65	2	20	1	18.7	0.887	3.95	1.00
66	2	20	1	18.7	0.884	3.95	1.00
67	2	20	2	18.7	0.887	3.96	1.08
68	2	20	2	18.7	0.887	3.96	1.08
69	2	20	2	18.7	0.887	3.96	1.08
70	2	20	3	18.7	0.887	3.96	1.00
71	2	20	3	18.7	0.886	3.97	1.00
72	2	20	3	18.7	0.886	3.97	1.00
73	2	30	1	18.6	0.888	4.15	1.15
74	2	30	1	18.3	0.888	4.15	1.16
75	2	30	1	18.6	0.887	4.15	1.18
76	2	30	2	18.4	0.886	4.13	1.20
77	2	30	2	18.4	0.889	4.13	1.20
78	2	30	2	18.4	0.888	4.15	1.20
79	2	30	3	18.4	0.888	4.16	1.18
80	2	30	3	18.4	0.888	4.15	1.18
81	2	30	3	18.4	0.886	4.15	1.18
82	2	40	1	18.4	0.886	4.21	1.26
83	2	40	1	18.4	0.886	4.21	1.26
84	2	40	1	18.4	0.886	4.21	1.26
85	2	40	2	18.4	0.888	4.21	1.26
86	2	40	2	18.4	0.888	4.21	1.26
87	2	40	2	18.4	0.888	4.21	1.26
88	2	40	3	18.4	0.886	4.21	1.20
89	2	40	3	18.4	0.886	4.21	1.20
90	2	40	3	18.4	0.886	4.21	1.20

**ANEXO 14 - LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* (Linné) Merrill)  
PARA TEORES DE UMIDADE, ATIVIDADE DE ÁGUA E CINZAS  
NAS SEMENTES CONVENCIONAIS E GENETICAMENTE MODIFI-  
CADAS**

continua

Data file : \_SJTEST\_  
Title : Analise Fisico-quimica da soja

Function : PRLIST  
Data case no. 1 to 180

List Of Variables

```
-----
Var Type      Name / Description
 1 NUMERIC TIPO DE SOJA
 2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
 3 NUMERIC AMOSTRAGEM
 4 NUMERIC TU - TEOR DE UMIDADE  (%)
 5 NUMERIC AW - TEOR DE ATIVIDADE DE AGUA
 6 NUMERIC CS - TEOR DE CINZAS  (%)
```

CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5	6
1	1	0	1	12.9	0.698	3.9
2	1	0	1	12.9	0.698	3.9
3	1	0	1	12.9	0.697	3.9
4	1	0	2	12.4	0.700	4.1
5	1	0	2	12.4	0.700	4.1
6	1	0	2	12.4	0.700	4.1
7	1	0	3	12.8	0.703	4.7
8	1	0	3	12.8	0.703	4.7
9	1	0	3	12.8	0.703	4.7
10	1	0	4	12.7	0.703	5.1
11	1	0	4	12.7	0.706	5.1
12	1	0	4	12.7	0.703	5.1
13	1	0	5	12.9	0.706	3.9
14	1	0	5	12.9	0.706	3.6
15	1	0	5	12.8	0.706	3.8
16	1	0	6	12.8	0.709	3.9
17	1	0	6	12.7	0.708	3.9
18	1	0	6	12.9	0.709	4.0
19	1	0	7	13.1	0.704	4.5
20	1	0	7	13.1	0.704	4.6
21	1	0	7	13.1	0.704	4.6
22	1	0	8	13.0	0.704	4.8
23	1	0	8	13.0	0.704	4.7
24	1	0	8	13.1	0.704	4.8
25	1	0	9	12.9	0.699	5.3
26	1	0	9	12.8	0.699	5.3
27	1	0	9	12.9	0.697	5.3
28	1	0	10	13.1	0.699	3.8
29	1	0	10	13.0	0.695	3.9
30	1	0	10	12.9	0.697	3.8
31	1	30	1	13.1	0.700	4.7
32	1	30	1	13.1	0.700	4.7
33	1	30	1	13.1	0.700	4.8
34	1	30	2	13.5	0.701	4.9
35	1	30	2	13.8	0.701	4.9
36	1	30	2	13.5	0.700	5.0
37	1	30	3	13.2	0.699	4.7
38	1	30	3	13.1	0.699	4.6
39	1	30	3	13.1	0.697	4.7
40	1	30	4	13.0	0.699	4.4
41	1	30	4	13.0	0.699	4.3
42	1	30	4	13.0	0.699	4.4
43	1	30	5	13.0	0.699	3.9
44	1	30	5	13.0	0.699	4.0
45	1	30	5	13.0	0.699	4.0
46	1	30	6	13.0	0.699	5.2
47	1	30	6	13.0	0.699	5.3
48	1	30	6	12.9	0.699	5.3
49	1	30	7	12.9	0.700	4.8
50	1	30	7	12.9	0.700	4.8
51	1	30	7	12.9	0.700	4.8
52	1	30	8	12.8	0.700	4.9
53	1	30	8	12.9	0.700	5.0
54	1	30	8	13.0	0.700	5.0
55	1	30	9	13.0	0.650	3.9
56	1	30	9	13.0	0.650	3.9
57	1	30	9	13.0	0.650	3.9
58	1	30	10	13.0	0.633	5.2
59	1	30	10	13.0	0.633	5.2
60	1	30	10	13.0	0.633	5.2

**ANEXO 14 - LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* (Linné) Merrill)  
PARA TEORES DE UMIDADE, ATIVIDADE DE ÁGUA E CINZAS  
NAS SEMENTES CONVENCIONAIS E GENETICAMENTE MODIFI-  
CADAS**

continuação

Data file : \_SJTEST\_  
Title : Analise Fisico-quimica da soja

Function : PRLIST  
Data case no. 1 to 180

List Of Variables

```
-----
Var Type      Name / Description
 1 NUMERIC TIPO DE SOJA
 2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
 3 NUMERIC AMOSTRAGEM
 4 NUMERIC TU - TEOR DE UMIDADE (%)
 5 NUMERIC AW - TEOR DE ATIVIDADE DE AGUA
 6 NUMERIC CS - TEOR DE CINZAS (%)
```

CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5	6
61	1	60	1	13.3	0.717	3.9
62	1	60	1	13.2	0.717	4.0
63	1	60	1	13.4	0.719	4.0
64	1	60	2	13.2	0.705	4.0
65	1	60	2	13.2	0.705	4.0
66	1	60	2	13.2	0.705	4.0
67	1	60	3	13.6	0.705	4.7
68	1	60	3	13.6	0.705	4.6
69	1	60	3	13.8	0.705	4.7
70	1	60	4	13.9	0.716	4.9
71	1	60	4	13.4	0.716	5.0
72	1	60	4	13.6	0.716	5.0
73	1	60	5	13.4	0.715	4.1
74	1	60	5	13.4	0.715	4.1
75	1	60	5	13.2	0.715	4.1
76	1	60	6	13.4	0.699	4.3
77	1	60	6	13.4	0.699	4.4
78	1	60	6	13.4	0.699	4.4
79	1	60	7	13.2	0.699	4.9
80	1	60	7	13.2	0.699	4.9
81	1	60	7	13.2	0.699	4.9
82	1	60	8	13.9	0.699	4.6
83	1	60	8	13.9	0.699	4.7
84	1	60	8	13.9	0.699	4.7
85	1	60	9	13.2	0.701	4.2
86	1	60	9	13.2	0.701	4.2
87	1	60	9	13.2	0.701	4.2
88	1	60	10	13.3	0.703	5.0
89	1	60	10	13.3	0.703	5.1
90	1	60	10	13.3	0.703	5.1
91	2	0	1	12.8	0.715	4.1
92	2	0	1	12.8	0.715	4.1
93	2	0	2	12.9	0.713	5.2
94	2	0	2	12.9	0.713	5.3
95	2	0	2	12.9	0.713	5.3
96	2	0	3	13.1	0.711	4.3
97	2	0	3	13.0	0.711	4.3
98	2	0	3	13.1	0.711	4.3
99	2	0	4	13.1	0.713	4.9
100	2	0	4	13.1	0.713	5.0
101	2	0	4	13.1	0.713	5.0
102	2	0	5	13.0	0.716	4.9
103	2	0	5	13.0	0.716	4.8
104	2	0	5	13.2	0.716	4.9
105	2	0	6	13.0	0.712	5.2
106	2	0	6	13.0	0.712	5.2
107	2	0	6	13.0	0.712	5.2
108	2	0	7	13.2	0.710	3.8
109	2	0	7	13.2	0.710	3.8
110	2	0	7	13.2	0.710	3.9
111	2	0	8	13.1	0.710	3.9
112	2	0	8	13.1	0.710	3.8
113	2	0	8	13.2	0.710	3.8
114	2	0	9	13.3	0.709	3.5
115	2	0	9	13.3	0.709	3.6
116	2	0	9	13.3	0.709	3.6
117	2	0	10	13.1	0.712	4.6
118	2	0	10	13.1	0.712	4.7
119	2	0	10	13.1	0.712	4.7
120	2	30	1	13.0	0.719	4.7
121	2	30	1	13.0	0.719	4.7
122	2	30	1	13.0	0.719	4.7

**ANEXO 14 - LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* (Linné) Merrill)  
PARA TEORES DE UMIDADE, ATIVIDADE DE ÁGUA E CINZAS  
NAS SEMENTES CONVENCIONAIS E GENETICAMENTE MODIFI-  
CADAS**

conclusão

Data file : \_SJTEST\_  
Title : Analise Fisico-quimica da soja

Function : PRLIST  
Data case no. 1 to 180

## List Of Variables

```
-----
Var Type      Name / Description
 1 NUMERIC TIPO DE SOJA
 2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
 3 NUMERIC AMOSTRAGEM
 4 NUMERIC TU - TEOR DE UMIDADE (%)
 5 NUMERIC AW - TEOR DE ATIVIDADE DE AGUA
 6 NUMERIC CS - TEOR DE CINZAS (%)
```

## CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5	6
123	2	30	1	13.5	0.719	4.6
124	2	30	2	13.1	0.713	4.8
125	2	30	2	13.1	0.713	4.8
126	2	30	2	13.2	0.713	4.7
127	2	30	3	13.8	0.710	4.9
128	2	30	3	13.8	0.710	4.9
129	2	30	3	13.8	0.710	4.9
130	2	30	4	13.8	0.713	4.4
131	2	30	4	13.8	0.713	4.4
132	2	30	4	13.8	0.713	4.4
133	2	30	5	13.4	0.708	4.2
134	2	30	5	13.4	0.708	4.1
135	2	30	5	13.4	0.708	4.1
136	2	30	6	13.8	0.709	4.3
137	2	30	6	13.8	0.709	4.3
138	2	30	6	13.8	0.709	4.3
139	2	30	7	13.7	0.715	4.7
140	2	30	7	13.7	0.715	4.7
141	2	30	7	13.7	0.715	4.6
142	2	30	8	13.9	0.715	4.8
143	2	30	8	13.9	0.715	4.7
144	2	30	8	13.5	0.715	4.8
145	2	30	9	14.1	0.716	4.6
146	2	30	9	14.1	0.716	4.6
147	2	30	9	14.1	0.716	4.6
148	2	30	10	14.0	0.716	4.3
149	2	30	10	14.0	0.716	4.3
150	2	30	10	14.2	0.716	4.3
151	2	60	1	13.5	0.719	4.2
152	2	60	1	13.5	0.719	4.2
153	2	60	1	13.5	0.719	4.2
154	2	60	2	13.5	0.712	4.9
155	2	60	2	13.5	0.712	4.9
156	2	60	2	13.5	0.712	4.9
157	2	60	3	13.6	0.715	4.7
158	2	60	3	13.6	0.715	4.7
159	2	60	3	13.6	0.715	4.7
160	2	60	4	13.8	0.709	4.4
161	2	60	4	13.8	0.709	4.4
162	2	60	4	13.8	0.709	4.4
163	2	60	5	13.8	0.708	4.2
164	2	60	5	13.8	0.708	4.2
165	2	60	5	13.8	0.708	4.2
166	2	60	6	13.7	0.711	4.3
167	2	60	6	13.7	0.711	4.3
168	2	60	6	13.6	0.711	4.3
169	2	60	7	14.0	0.715	4.7
170	2	60	7	14.0	0.716	4.7
171	2	60	7	14.0	0.715	4.7
172	2	60	8	14.0	0.715	4.8
173	2	60	8	14.0	0.715	4.8
174	2	60	8	14.0	0.715	4.8
175	2	60	9	14.2	0.716	4.6
176	2	60	9	14.3	0.716	4.6
177	2	60	9	14.0	0.716	4.6
178	2	60	10	14.1	0.721	4.3
179	2	60	10	14.1	0.721	4.3
180	2	60	10	14.0	0.721	4.3

## ANEXO 15 – RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE TEOR DE UMIDADE DAS AMOSTRAS ESTABELECIDAS

Data file: \_SJTEST\_  
Title: Analise Fisico-quimica da soja

Function: ANOVA-1  
Data case no. 1 to 180

One way ANOVA grouped over variable 1 (TIPO DE SOJA)  
with values from 1 to 2.

Variable 4 (TU - TEOR DE UMIDADE (%))

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
-----					
Between	1	7.565	7.565	56.195	0.0000
Within	178	23.961	0.135		
-----					
Total	179	31.526			

Coefficient of Variation = 2.76%

Var. 1	V A R I A B L E Number	No. 4 Sum	Average	SD	SE
-----					
1	90.00	1179.600	13.107	0.32	0.04
2	90.00	1216.500	13.517	0.41	0.04
-----					
Total	180.00	2396.100	13.312	0.42	0.03
Within				0.37	

Bartlett's test

-----  
Chi-square = 5.670  
Number of Degrees of Freedom = 1  
Approximate significance = 0.000

**ANEXO 16 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* (Linné) Merrill)  
PARA ANÁLISES DE MICROBIOLOGIA**

continua

Data file : \_SJLISTMB\_

Title : Analise Microbiologica da Soja

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 180

List Of Variables

```
-----
Var Type      Name / Description
 1 NUMERIC TIPO DE SOJA
 2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
 3 NUMERIC AMOSTRAGEM
 4 NUMERIC TPC log (ufc/g)
 5 NUMERIC Y-MSC    log (ufc/g)
 6 NUMERIC FUNGITox log (ufc/g)
 7 NUMERIC NMPCF/Ec log (ufc/g)
 8 NUMERIC SALMONELLA (ausente/25g)
```

CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5	6	7	8
1	1	0	1	3.53	2.60	2.18	0.00	0.00
2	1	0	1	3.53	2.60	2.18	0.00	0.00
3	1	0	1	3.53	2.60	2.18	0.00	0.00
4	1	0	2	3.36	2.52	2.11	0.00	0.00
5	1	0	2	3.33	2.52	2.11	0.00	0.00
6	1	0	2	3.36	2.52	2.11	0.00	0.00
7	1	0	3	3.32	2.81	2.34	0.00	0.00
8	1	0	3	3.32	2.81	2.34	0.00	0.00
9	1	0	3	3.32	2.81	2.34	0.00	0.00
10	1	0	4	2.95	2.73	2.30	0.00	0.00
11	1	0	4	2.97	2.73	2.30	0.00	0.00
12	1	0	4	2.96	2.73	2.30	0.00	0.00
13	1	0	5	3.18	2.40	2.38	0.00	0.00
14	1	0	5	3.18	2.40	2.38	0.00	0.00
15	1	0	5	3.18	2.40	2.38	0.00	0.00
16	1	0	6	3.48	2.61	0.00	0.00	0.00
17	1	0	6	3.48	2.61	0.00	0.00	0.00
18	1	0	6	3.48	2.61	0.00	0.00	0.00
19	1	0	7	3.49	2.51	0.00	0.00	0.00
20	1	0	7	3.49	2.51	0.00	0.00	0.00
21	1	0	7	3.49	2.51	0.00	0.00	0.00
22	1	0	8	3.60	2.60	2.20	0.00	0.00
23	1	0	8	3.60	2.60	2.20	0.00	0.00
24	1	0	8	3.59	2.60	2.20	0.00	0.00
25	1	0	9	2.90	2.60	2.26	0.00	0.00
26	1	0	9	2.91	2.57	2.26	0.00	0.00
27	1	0	9	2.93	2.57	2.26	0.00	0.00
28	1	0	10	3.08	2.45	2.04	0.00	0.00
29	1	0	10	3.08	2.46	2.04	0.00	0.00
30	1	0	10	3.09	2.46	2.04	0.00	0.00
31	1	30	1	3.71	2.36	2.48	0.00	0.00
32	1	30	1	3.71	2.36	2.48	0.00	0.00
33	1	30	1	3.74	2.36	2.48	0.00	0.00
34	1	30	2	3.63	2.38	2.51	0.00	0.00
35	1	30	2	3.63	2.38	2.51	0.00	0.00
36	1	30	2	3.63	2.38	2.51	0.00	0.00
37	1	30	3	3.57	2.40	2.30	0.00	0.00
38	1	30	3	3.57	2.41	2.30	0.00	0.00
39	1	30	3	3.57	2.41	2.30	0.00	0.00
40	1	30	4	3.11	2.34	2.51	0.00	0.00
41	1	30	4	3.11	2.34	2.51	0.00	0.00
42	1	30	4	3.11	2.34	2.51	0.00	0.00
43	1	30	5	3.20	2.39	2.32	0.00	0.00
44	1	30	5	3.25	2.35	2.32	0.00	0.00
45	1	30	5	3.20	2.42	2.32	0.00	0.00
46	1	30	6	3.48	2.43	2.45	0.00	0.00
47	1	30	6	3.48	2.43	2.45	0.00	0.00
48	1	30	6	3.48	2.43	2.45	0.00	0.00
49	1	30	7	3.51	2.26	0.00	0.00	0.00
50	1	30	7	3.51	2.26	0.00	0.00	0.00
51	1	30	7	3.57	2.26	0.00	0.00	0.00
52	1	30	8	3.45	2.37	2.61	0.00	0.00
53	1	30	8	3.45	2.36	2.61	0.00	0.00
54	1	30	8	3.45	2.39	2.61	0.00	0.00
55	1	30	9	3.20	2.30	2.30	0.00	0.00
56	1	30	9	3.20	2.31	2.30	0.00	0.00
57	1	30	9	3.20	2.31	2.30	0.00	0.00
58	1	30	10	3.11	2.11	2.45	0.00	0.00
59	1	30	10	3.11	2.11	2.45	0.00	0.00
60	1	30	10	3.11	2.11	2.45	0.00	0.00

# **ANEXO 16 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* (Linné) Merrill) PARA ANÁLISES DE MICROBIOLOGIA**

continuação

Data file : \_SJLISTMB\_  
Title : Analise Microbiologica da Soja

Function : PRLIST  
Data case no. 1 to 180

## List Of Variables

Var	Type	Name / Description
1	NUMERIC	TIPO DE SOJA
2	NUMERIC	DIAS DE ARMAZENAMENTO
3	NUMERIC	AMOSTRAGEM
4	NUMERIC	TPC log (ufc/g)
5	NUMERIC	Y-MSC log (ufc/g)
6	NUMERIC	FUNGITox log (ufc/g)
7	NUMERIC	NMPCF/Ec log (ufc/g)
8	NUMERIC	SALMONELLA (ausente/25g)

## CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5	6	7	8
----------	---	---	---	---	---	---	---	---

61	1	60	1	3.73	2.48	1.90	0.00	0.00
62	1	60	1	3.73	2.48	1.90	0.00	0.00
63	1	60	1	3.73	2.48	1.90	0.00	0.00
64	1	60	2	3.58	2.46	2.20	0.00	0.00
65	1	60	2	3.58	2.45	2.20	0.00	0.00
66	1	60	2	3.58	2.46	2.20	0.00	0.00
67	1	60	3	3.26	2.36	2.48	0.00	0.00
68	1	60	3	3.26	2.36	2.48	0.00	0.00
69	1	60	3	3.26	2.36	2.48	0.00	0.00
70	1	60	4	3.38	2.23	2.08	0.00	0.00
71	1	60	4	3.39	2.23	2.08	0.00	0.00
72	1	60	4	3.39	2.23	2.08	0.00	0.00
73	1	60	5	2.90	2.45	2.51	0.00	0.00
74	1	60	5	2.91	2.45	2.51	0.00	0.00
75	1	60	5	2.93	2.45	2.51	0.00	0.00
76	1	60	6	2.48	2.08	2.40	0.00	0.00
77	1	60	6	2.48	2.08	2.40	0.00	0.00
78	1	60	6	2.48	2.08	2.40	0.00	0.00
79	1	60	7	3.48	2.45	2.41	0.00	0.00
80	1	60	7	3.48	2.45	2.41	0.00	0.00
81	1	60	7	3.48	2.45	2.41	0.00	0.00
82	1	60	8	3.49	2.23	2.51	0.00	0.00
83	1	60	8	3.49	2.45	2.51	0.00	0.00
84	1	60	8	3.49	2.36	2.51	0.00	0.00
85	1	60	9	3.26	2.32	2.26	0.00	0.00
86	1	60	9	3.26	2.51	2.26	0.00	0.00
87	1	60	9	3.26	2.51	2.26	0.00	0.00
88	1	60	10	3.32	2.15	2.41	0.00	0.00
89	1	60	10	3.32	2.15	2.41	0.00	0.00

90	1	60	10	3.32	2.15	2.41	0.00	0.00
91	2	0	1	2.92	1.72	1.00	0.00	0.00
92	2	0	1	2.92	1.72	1.00	0.00	0.00
93	2	0	1	2.92	1.72	1.00	0.00	0.00
94	2	0	2	2.86	1.72	1.48	0.00	0.00
95	2	0	2	2.86	1.72	1.48	0.00	0.00
96	2	0	2	2.86	1.72	1.48	0.00	0.00
97	2	0	3	2.85	1.60	1.30	0.00	0.00
98	2	0	3	2.85	1.60	1.30	0.00	0.00
99	2	0	3	2.85	1.60	1.30	0.00	0.00
100	2	0	4	2.77	1.76	2.00	0.00	0.00
101	2	0	4	2.77	1.76	2.00	0.00	0.00
102	2	0	4	2.86	1.76	2.00	0.00	0.00
103	2	0	5	2.81	1.65	1.60	0.00	0.00
104	2	0	5	2.81	1.65	1.60	0.00	0.00
105	2	0	5	2.81	1.65	1.60	0.00	0.00
106	2	0	6	2.90	1.43	0.00	0.00	0.00
107	2	0	6	2.90	1.43	0.00	0.00	0.00
108	2	0	6	2.90	1.43	0.00	0.00	0.00
109	2	0	7	2.91	1.51	0.00	0.00	0.00
110	2	0	7	2.91	1.51	0.00	0.00	0.00
111	2	0	7	2.91	1.51	0.00	0.00	0.00
112	2	0	8	2.95	1.62	1.78	0.00	0.00
113	2	0	8	2.95	1.62	1.78	0.00	0.00
114	2	0	8	2.95	1.62	1.78	0.00	0.00
115	2	0	9	2.70	1.67	0.00	0.00	0.00
116	2	0	9	2.70	1.67	0.00	0.00	0.00
117	2	0	9	2.77	1.67	0.00	0.00	0.00
118	2	0	10	2.32	1.68	1.90	0.00	0.00



# ANEXO 16 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* (Linné) Merrill) PARA ANÁLISES DE MICROBIOLOGIA

conclusão

Data file : \_SJLISTMB\_

Title : Analise Microbiologica da Soja

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 180

List Of Variables

Var	Type	Name / Description	
1	NUMERIC	TIPO DE SOJA	5 NUMERIC Y-MSC log (ufc/g)
2	NUMERIC	DIAS DE ARMAZENAMENTO	6 NUMERIC FUNGITox log (ufc/g)
3	NUMERIC	AMOSTRAGEM	7 NUMERIC NMPCF/Ec log (ufc/g)
4	NUMERIC	TPC log (ufc/g)	8 NUMERIC SALMONELLA (ausente/25g)

CASE

NO.	1	2	3	4	5	6	7	8										
119	2	0	10	2.32	1.68	1.91	0.00	0.00	150	2	30	10	2.92	1.51	2.26	0.00	0.00	
120	2	0	10	2.32	1.68	1.00	0.00	0.00	151	2	60	1	2.38	1.48	1.90	0.00	0.00	
121	2	30	1	2.91	1.36	2.48	0.00	0.00	152	2	60	1	2.38	1.48	1.90	0.00	0.00	
122	2	30	1	2.91	1.36	2.48	0.00	0.00	153	2	60	1	2.38	1.48	1.90	0.00	0.00	
123	2	30	1	2.91	1.36	2.48	0.00	0.00	154	2	60	2	2.15	0.48	2.20	0.00	0.00	
124	2	30	2	2.86	1.67	1.30	0.00	0.00	155	2	60	2	2.15	0.48	2.20	0.00	0.00	
125	2	30	2	2.86	1.67	1.30	0.00	0.00	156	2	60	2	2.11	0.48	2.20	0.00	0.00	
126	2	30	2	2.86	1.67	1.30	0.00	0.00	157	2	60	3	2.40	1.30	2.48	0.00	0.00	
127	2	30	3	2.57	1.18	2.00	0.00	0.00	158	2	60	3	2.40	1.30	2.48	0.00	0.00	
128	2	30	3	2.57	1.18	2.00	0.00	0.00	159	2	60	3	2.40	1.30	2.48	0.00	0.00	
129	2	30	3	2.57	1.18	2.00	0.00	0.00	160	2	60	4	1.90	1.23	2.08	0.00	0.00	
130	2	30	4	2.23	1.30	2.51	0.00	0.00	161	2	60	4	1.90	1.23	2.08	0.00	0.00	
131	2	30	4	2.23	1.30	2.51	0.00	0.00	162	2	60	4	1.91	1.23	2.08	0.00	0.00	
132	2	30	4	2.23	1.30	2.51	0.00	0.00	163	2	60	5	2.56	1.45	2.51	0.00	0.00	
133	2	30	5	2.79	1.15	2.32	0.00	0.00	164	2	60	5	2.56	1.45	2.51	0.00	0.00	
134	2	30	5	2.79	1.15	2.32	0.00	0.00	165	2	60	5	2.56	1.45	2.51	0.00	0.00	
135	2	30	5	2.77	1.15	2.32	0.00	0.00	166	2	60	6	1.60	1.08	2.40	0.00	0.00	
136	2	30	6	2.71	1.67	1.90	0.00	0.00	167	2	60	6	1.60	1.08	2.40	0.00	0.00	
137	2	30	6	2.71	1.67	1.90	0.00	0.00	168	2	60	6	1.60	1.08	2.40	0.00	0.00	
138	2	30	6	2.69	1.67	1.90	0.00	0.00	169	2	60	7	2.58	0.90	2.41	0.00	0.00	
139	2	30	7	2.79	1.68	0.00	0.00	0.00	170	2	60	7	2.58	0.90	2.41	0.00	0.00	
140	2	30	7	2.79	1.68	0.00	0.00	0.00	171	2	60	7	2.58	0.90	2.41	0.00	0.00	
141	2	30	7	2.79	1.68	0.00	0.00	0.00	172	2	60	8	2.36	1.00	2.51	0.00	0.00	
142	2	30	8	2.54	1.62	2.61	0.00	0.00	173	2	60	8	2.36	1.00	2.51	0.00	0.00	
143	2	30	8	2.54	1.62	2.61	0.00	0.00	174	2	60	8	2.36	1.00	2.51	0.00	0.00	
144	2	30	8	2.54	1.62	2.61	0.00	0.00	175	2	60	9	2.15	1.51	2.26	0.00	0.00	
145	2	30	9	2.51	1.00	2.30	0.00	0.00	176	2	60	9	2.15	1.51	2.26	0.00	0.00	
146	2	30	9	2.51	1.00	2.30	0.00	0.00	177	2	60	9	2.15	1.51	2.26	0.00	0.00	
147	2	30	9	2.51	1.00	2.30	0.00	0.00	178	2	60	10	2.04	1.15	2.41	0.00	0.00	
148	2	30	10	2.92	1.51	2.26	0.00	0.00	179	2	60	10	2.04	1.15	2.41	0.00	0.00	
149	2	30	10	2.92	1.51	2.26	0.00	0.00	180	2	60	10	2.04	1.15	2.41	0.00	0.00	

**ANEXO 17 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* (Linné) Merrill)  
PARA ANÁLISES DE MICOTOXICOLOGIA**

continua

Data file : \_SJTL\_

Title : Analise de Cromatografia em Camada Delgada - SOJA

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 180

List Of Variables

```
-----
Var Type      Name / Description
 1 NUMERIC TIPO DE SOJA
 2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
 3 NUMERIC AMOSTRAGEM
 4 NUMERIC AFLATOXINA log (ppb)
 5 NUMERIC FUMONISINA log (ppm)
 6 NUMERIC ZEARALENONA log (ppm)
```

CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5	6
1	1	0	1	0.70	0.70	0.00
2	1	0	1	0.70	0.00	0.00
3	1	0	1	0.70	0.00	0.00
4	1	0	2	0.77	0.00	0.00
5	1	0	2	0.77	0.00	0.00
6	1	0	2	0.77	0.00	0.00
7	1	0	3	1.25	0.00	0.00
8	1	0	3	1.25	0.00	0.00
9	1	0	3	1.25	0.00	0.00
10	1	0	4	1.72	0.00	0.00
11	1	0	4	1.72	0.00	0.00
12	1	0	4	1.72	0.00	0.00
13	1	0	5	1.69	0.00	0.00
14	1	0	5	1.69	0.00	0.00
15	1	0	5	1.69	0.00	0.00
16	1	0	6	1.74	0.00	0.00
17	1	0	6	1.74	0.00	0.00
18	1	0	6	1.74	0.00	0.00
19	1	0	7	1.24	0.00	0.00
20	1	0	7	1.24	0.00	0.00
21	1	0	7	1.24	0.00	0.00
22	1	0	8	1.02	0.00	0.00
23	1	0	8	1.02	0.00	0.00
24	1	0	8	1.02	0.00	0.00
25	1	0	9	1.21	0.00	0.00
26	1	0	9	1.21	0.00	0.00
27	1	0	9	1.21	0.00	0.00
28	1	0	10	1.28	0.00	0.00
29	1	0	10	1.28	0.00	0.00
30	1	0	10	1.28	0.00	0.00
31	1	30	1	1.76	0.00	0.00
32	1	30	1	1.76	0.00	0.00
33	1	30	1	1.76	0.00	0.00
34	1	30	2	1.79	0.00	0.00
35	1	30	2	1.79	0.00	0.00
36	1	30	2	1.79	0.00	0.00
37	1	30	3	1.95	0.00	0.00
38	1	30	3	1.95	0.00	0.00
39	1	30	3	1.95	0.00	0.00
40	1	30	4	1.25	0.00	0.00
41	1	30	4	1.25	0.00	0.00
42	1	30	4	1.25	0.00	0.00
43	1	30	5	1.44	0.00	0.00
44	1	30	5	1.44	0.00	0.00
45	1	30	5	1.44	0.00	0.00
46	1	30	6	1.37	0.00	0.00
47	1	30	6	1.37	0.00	0.00
48	1	30	6	1.37	0.00	0.00
49	1	30	7	1.95	0.00	0.00
50	1	30	7	1.95	0.00	0.00
51	1	30	7	1.95	0.00	0.00
52	1	30	8	1.66	0.00	0.00
53	1	30	8	1.66	0.00	0.00
54	1	30	8	1.66	0.00	0.00
55	1	30	9	1.30	0.00	0.00
56	1	30	9	1.30	0.00	0.00
57	1	30	9	1.30	0.00	0.00
58	1	30	10	1.13	0.00	0.00
59	1	30	10	1.13	0.00	0.00
60	1	30	10	1.13	0.00	0.00
61	1	60	1	1.68	0.00	0.00
62	1	60	1	1.68	0.00	0.00

**ANEXO 17 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* (Linné) Merrill)  
PARA ANÁLISES DE MICOTOXICOLOGIA**

continuação

Data file : \_SJTL\_

Title : Analise de Cromatografia em Camada Delgada - SOJA

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 180

List Of Variables

```
-----
Var Type      Name / Description
 1 NUMERIC TIPO DE SOJA
 2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO
 3 NUMERIC AMOSTRAGEM
 4 NUMERIC AFLATOXINA log (ppb)
 5 NUMERIC FUMONISINA log (ppm)
 6 NUMERIC ZEARALENONA log (ppm)
```

CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5	6
63	1	60	1	1.68	0.00	0.00
64	1	60	2	1.76	0.00	0.00
65	1	60	2	1.76	0.00	0.00
66	1	60	2	1.76	0.00	0.00
67	1	60	3	1.83	0.00	0.00
68	1	60	3	1.83	0.00	0.00
69	1	60	3	1.83	0.00	0.00
70	1	60	4	1.52	0.00	0.00
71	1	60	4	1.52	0.00	0.00
72	1	60	4	1.52	0.00	0.00
73	1	60	5	1.63	0.00	0.00
74	1	60	5	1.63	0.00	0.00
75	1	60	5	1.63	0.00	0.00
76	1	60	6	1.88	0.00	0.00
77	1	60	6	1.88	0.00	0.00
78	1	60	6	1.88	0.00	0.00
79	1	60	7	1.96	0.00	0.00
80	1	60	7	1.96	0.00	0.00
81	1	60	7	1.96	0.00	0.00
82	1	60	8	1.57	0.00	0.00
83	1	60	8	1.57	0.00	0.00
84	1	60	8	1.57	0.00	0.00
85	1	60	9	1.45	0.00	0.00
86	1	60	9	1.45	0.00	0.00
87	1	60	9	1.45	0.00	0.00
88	1	60	10	1.35	0.00	0.00
89	1	60	10	1.35	0.00	0.00
90	1	60	10	1.35	0.00	0.00
91	2	0	1	1.06	0.00	0.00
92	2	0	1	1.06	0.00	0.00
93	2	0	1	1.06	0.00	0.00
94	2	0	2	0.98	0.00	0.00
95	2	0	2	0.98	0.00	0.00
96	2	0	2	0.98	0.00	0.00
97	2	0	3	1.24	0.00	0.00
98	2	0	3	1.24	0.00	0.00
99	2	0	3	1.24	0.00	0.00
100	2	0	4	1.33	0.00	0.00
101	2	0	4	1.33	0.00	0.00
102	2	0	4	1.33	0.00	0.00
103	2	0	5	1.43	0.00	0.00
104	2	0	5	1.43	0.00	0.00
105	2	0	5	1.43	0.00	0.00
106	2	0	6	1.20	0.00	0.00
107	2	0	6	1.20	0.00	0.00
108	2	0	6	1.20	0.00	0.00
109	2	0	7	1.26	0.00	0.00
110	2	0	7	1.26	0.00	0.00
111	2	0	7	1.26	0.00	0.00
112	2	0	8	1.03	0.00	0.00
113	2	0	8	1.03	0.00	0.00
114	2	0	8	1.03	0.00	0.00
115	2	0	9	1.18	0.00	0.00
116	2	0	9	1.18	0.00	0.00
117	2	0	9	1.18	0.00	0.00
118	2	0	10	1.24	0.00	0.00
119	2	0	10	1.24	0.00	0.00
120	2	0	10	1.24	0.00	0.00
121	2	30	1	1.57	0.00	0.00
122	2	30	1	1.57	0.00	0.00

**ANEXO 17 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS  
AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* (Linné) Merrill)  
PARA ANÁLISES DE MICOTOXICOLOGIA**

conclusão

Data file : \_SJTL\_

Title : Analise de Cromatografia em Camada Delgada - SOJA

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 180

List Of Variables

-----  
Var Type      Name / Description

1 NUMERIC TIPO DE SOJA

2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAMENTO

3 NUMERIC AMOSTRAGEM

4 NUMERIC AFLATOXINA log (ppb)

5 NUMERIC FUMONISINA log (ppm)

6 NUMERIC ZEARALENONA log (ppm)

CASE

NO. 1 2 3 4 5 6

-----  
123 2 30 1 1.57 0.00 0.00  
124 2 30 2 1.69 0.00 0.00  
125 2 30 2 1.69 0.00 0.00  
126 2 30 2 1.69 0.00 0.00  
127 2 30 3 1.51 0.00 0.00  
128 2 30 3 1.51 0.00 0.00  
129 2 30 3 1.51 0.00 0.00  
130 2 30 4 1.18 0.00 0.00  
131 2 30 4 1.18 0.00 0.00  
132 2 30 4 1.18 0.00 0.00  
133 2 30 5 1.34 0.00 0.00  
134 2 30 5 1.34 0.00 0.00  
135 2 30 5 1.34 0.00 0.00  
136 2 30 6 1.24 0.00 0.00  
137 2 30 6 1.24 0.00 0.00  
138 2 30 6 1.24 0.00 0.00  
139 2 30 7 1.68 0.00 0.00  
140 2 30 7 1.68 0.00 0.00  
141 2 30 7 1.68 0.00 0.00  
142 2 30 8 1.43 0.00 0.00  
143 2 30 8 1.43 0.00 0.00  
144 2 30 8 1.43 0.00 0.00  
145 2 30 9 1.27 0.00 0.00  
146 2 30 9 1.27 0.00 0.00  
147 2 30 9 1.27 0.00 0.00  
148 2 30 10 1.14 0.00 0.00  
149 2 30 10 1.14 0.00 0.00  
150 2 30 10 1.14 0.00 0.00  
151 2 60 1 1.46 0.00 0.00  
152 2 60 1 1.46 0.00 0.00  
153 2 60 1 1.46 0.00 0.00  
154 2 60 2 1.57 0.00 0.00  
155 2 60 2 1.57 0.00 0.00  
156 2 60 2 1.57 0.00 0.00

157 2 60 3 1.75 0.00 0.00  
158 2 60 3 1.75 0.00 0.00  
159 2 60 3 1.75 0.00 0.00  
160 2 60 4 1.46 0.00 0.00  
161 2 60 4 1.46 0.00 0.00  
162 2 60 4 1.46 0.00 0.00  
163 2 60 5 1.53 0.00 0.00  
164 2 60 5 1.53 0.00 0.00  
165 2 60 5 1.53 0.00 0.00  
166 2 60 6 1.67 0.00 0.00  
167 2 60 6 1.67 0.00 0.00  
168 2 60 6 1.67 0.00 0.00  
169 2 60 7 1.71 0.00 0.00  
170 2 60 7 1.71 0.00 0.00  
171 2 60 7 1.71 0.00 0.00  
172 2 60 8 1.54 0.00 0.00  
173 2 60 8 1.54 0.00 0.00  
174 2 60 8 1.54 0.00 0.00  
175 2 60 9 1.28 0.00 0.00  
176 2 60 9 1.28 0.00 0.00  
177 2 60 9 1.28 0.00 0.00  
178 2 60 10 1.44 0.00 0.00  
179 2 60 10 1.44 0.00 0.00  
180 2 60 10 1.44 0.00 0.00  
-----



# ANEXO 18 – LISTAGEM ESTATÍSTICA DOS VALORES ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* (Linné) Merrill) NAS ANÁLISES DA CONTAMINAÇÃO FORÇADA

conclusão

Data file : \_SJCFTS\_

Title : Contaminacao Forcada da Soja com Aspergillus flavus

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 90

List Of Variables

-----  
Var Type      Name / Description

1 NUMERIC TIPO DE SOJA

2 NUMERIC DIAS DE ARMAZENAGEM

3 NUMERIC AMOSTRAGEM

4 NUMERIC TEOR DE UMIDADE (%)

5 NUMERIC TOER DE ATIVIDADE DE AGUA

6 NUMERIC CONTAGEM DE FUNGOS TOXIGENICOS - FUNGITox log (ufc/g)

7 NUMERIC AFLATOXINAS log (ppb)

CASE

NO. 1 2 3 4 5 6 7

-----  
61 2 10 3 18.8 0.704 3.94 0.71

62 2 10 3 18.8 0.704 3.94 0.71

63 2 10 3 18.8 0.704 3.94 0.71

64 2 20 1 18.7 0.702 3.95 0.88

65 2 20 1 18.7 0.702 3.95 0.88

66 2 20 1 18.7 0.702 3.95 0.88

67 2 20 2 18.5 0.706 3.95 0.95

68 2 20 2 18.5 0.706 3.94 0.95

69 2 20 2 18.5 0.706 3.94 0.95

70 2 20 3 18.5 0.706 3.94 0.92

71 2 20 3 18.5 0.706 3.94 0.92

72 2 20 3 18.5 0.706 3.94 0.92

73 2 30 1 18.4 0.707 3.97 0.96

74 2 30 1 18.4 0.707 3.97 0.96

75 2 30 1 18.4 0.707 3.96 0.96

76 2 30 2 18.4 0.707 3.96 1.05

77 2 30 2 18.4 0.707 3.97 1.05

78 2 30 2 18.4 0.707 3.97 1.05

79 2 30 3 18.4 0.707 3.95 0.95

80 2 30 3 18.4 0.707 3.95 0.95

81 2 30 3 18.4 0.707 3.95 0.95

82 2 40 1 18.3 0.707 3.91 1.33

83 2 40 1 18.3 0.707 3.90 1.32

84 2 40 1 18.3 0.707 3.89 1.33

85 2 40 2 18.3 0.707 3.89 1.33

86 2 40 2 18.3 0.707 3.83 1.30

87 2 40 2 18.3 0.707 3.83 1.30

88 2 40 3 18.3 0.707 3.81 1.29

89 2 40 3 18.3 0.707 3.81 1.29

90 2 40 3 18.3 0.707 3.86 1.29  
-----